

# **TOIDU SÄILIMISAJA MÄÄRAMINE**

## **I osa**

**(täiendatud ja parandatud väljaanne)**





Euroopa Maaelu Arengu  
Põllumajandusfond:  
Euroopa investeeringud  
maapiirkondadesse

Autorid: Mati Roasto, Katrin Laikoja

Fotod: Mati Roasto

Täname: Toomas Kramarenko, Katrin Kempi, Ingrid Vesmes, Elsa Peipman, Heneli Lamp, Marika Urke, Jaana Oona, Kristi Kadak, Edward-Tuudor Sooba, Tiiu Rand, Jelena Sõgel, Kairi Sisask, Kersti Ehandi

Maaeluministeeriumi ning Põllumajanduse Registrite ja Informatsiooni Ameti (PRIA) tellimusel koostanud Eesti Maaülikooli toiduhügieeni ja rahvatervise õppetool.

Varalised õigused kuuluvad materjali tellijale.

Kõik autoriõigused on kaitstud.

Teadmussiirde pikaajaline programm toiduohutuse valdkonnas viiakse läbi “Eesti maaelu arengukava 2014–2020” raames ning seda rahastatakse Euroopa Maaelu Arengu Põllumajandusfondist (EAFRD).

ISBN 978-9949-698-73-8 (pdf)

Tartu, 2019

**Käsiraamat:** Toidu säilimisaja määramine, esimene osa

Käesolev juhend on välja töötatud selleks, et tutvustada toidu säilimisaegade määramise põhimõtteid ning meetodeid. Antakse ülevaade toidus mikroorganismide kasvu mõjutavatest teguritest ning jahetemperatuuridel säilitatavate valmistoitude mikrobioloogilistest ohtudest. Dokumendis on kirjeldatud kehtivast seadusandlusest tulenevaid nõudeid ning kriteeriume või erinevate kirjandusallikate toiduohutuse juhendväärtusi. Juhend ei ole ette nähtud kehtiva seadusandluse detailseks tutvustamiseks.

Käesoleva juhendi näol ei ole tegemist õiguslikult siduva dokumendiga, mistõttu dokumendi esitaja ei võta vastutust info puudumise või vääriti tõlgendamise suhtes.

# Sisukord

Mõisted.....	6
Sissejuhatus .....	9
1. Toidu säilimisaeg .....	10
2. Toidu minimaalse säilimisaja ning tarvitamise tähtpäev.....	10
2.1. Minimaalse säilimisaja tähtpäev.....	11
2.2. Tarvitamise tähtpäev .....	11
3. Toidu säilimisaja määramine.....	12
3.1. Säilimisaja määramise etapid .....	13
3.2. Säilimisaja määramine liittoitudele .....	16
3.3. Säilimisaja määramise meetodid. ....	16
3.3.1 Kestvuskatse.....	17
3.3.2 Nakkuskatse.....	17
3.3.3 Matemaatiline prognoosmudel .....	18
3.4. Analüüside sagedus kestvuskatse jooksul .....	18
3.5. Uuritavad partiid ning proovide arv .....	19
4. Toidu riknemine ja säilimisajaga mõjutavad tegurid.....	20
4.1. Temperatuur .....	21
4.2. Hapnikutarve .....	24
4.3. pH.....	24
4.3.1. Hapendamine.....	26
4.3.2. Marineerimine .....	27
4.4. Redokspotentsiaal.....	27
4.5. Vee aktiivsus .....	28
4.6. Suitsutamine .....	29
4.7. Lisaaained .....	30
4.8. Kontrollitud keskkond ja gaasikeskkonda (MAP) pakendamine .....	31
4.9. Füüsikaline/bioloogiline struktuur.....	31
5. Jahutatud (valmis)toitude mikrobioloogilised ohud .....	33
5.1. <i>Listeria monocytogenes</i> 'e ohjemeetmed .....	33
5.2. <i>Clostridium botulinum</i> 'i ohjemeetmed.....	33
5.3. <i>Yersinia enterocolitica</i> ohjemeetmed .....	35
5.4. <i>Bacillus cereus</i> 'e ohjemeetmed .....	35

6. Toidu külmutamine ning selle mõju toidu kvaliteedile ja ohutusele .....	36
7. Kuumtöötlemise efektiivsuse tagamine.....	37
Kokkuvõte .....	39
LISA 1. Toiduohutuskriteeriumid valmistoitudele, <i>Listeria monocytogenes</i> .....	40
Kasutatud kirjandus .....	43

## Mõisted

### **Esinduslik (representatiivne) proov**

Proov, milles on säilinud selle partii omadused, millest proov on võetud. Eelkõige on tegemist lihtsa juhusliku valimiga, mille korral partii igal eri osal on sama tõenäosus valimit moodustada.

### **Hea hügieenitava**

Kõikide seadusest tulenevate nõuete ja kohustuste täitmine ning teaduslikel teadmistel põhinevate hügieenieeskirjade kohaldamine, et saavutada toidu töötlemisprotsessis ja turule viimisel toidu ohutus.

### **Kestvuskatse**

Toidu valmistaja või pakendaja poolt planeeritud ning laboratooriumis läbiviidud analüüsitegevused, mille tulemuste põhjal määratakse toidu säilitamislõuded, sealhulgas toidu säilimisaeg ja säilitamistingimused, hinnates toidu ohutust ning toidu vastavust teistele (nt kvaliteedi) nõuetele.

### **Kiirestiriknev toit**

Toit, mis oma koostise tõttu on soodne keskkond toidu riknemist põhjustavate mikroorganismide kasvuks ja paljunemiseks.

### **Mikrobioloogiline kriteerium**

Kriteerium, millega määratakse kindlaks toote, toiduainepartii või protsessi vastuvõetavus, mis põhineb mikroorganismide puudumisel, olemasolul või arvul, nende toksiinide või metaboliitide kogusel massi-, mahu-, pindala- või partii ühiku kohta.

### **Mikrobiota**

Teatud kogukonna kõikide mikroorganismide kogum, nt konkreetsetes toidus leiduv mikroorganismide kogum.

### **Mikroorganismid**

Mikroorganismid on bakterid, viirused, pärmseened, hallitusseened, vetikad, parasiitalgloomad, mikroskoopilised parasitaar-ussnugilised ning nende toksiinid ja metaboliidid.

### **Nakkuskatse**

On vastavat oskust omavas laboratooriumis läbi viidud mikrobioloogiline katseseeria, mille käigus viiakse uuritavat patogeeni kindlas kontsentratsioonis toitu ning määratakse eelnevalt määratletud aja jooksul konkreetsetes säilitamistingimustes mikroorganismi kasvupotentsiaal ( $\delta$ ) (toidu)tootes.

### **Nullpäev**

Valmistamise või pakendamise kuupäev. Juhul, kui tehnoloogilise protsessi lõpu ja pakendamise vahele jääb märkimisväärne ajaperiood, siis peab toidukäitleja arvestama, et selle võrra lüheneb toidu säilimisaeg.

## **Ohuanalüüsi ja kriitiliste kontrollpunktide süsteem (HACCP)**

Süsteem, millega tuvastatakse, hinnatakse ja kontrollitakse toiduohutuse jaoks olulisi ohtusid. Kriitiline kontrollpunkt on etapp, mille käigus on võimalik teha kontrolli ja mis on oluline toidu ohutust ähvardava mõjuri tõkestamise või kõrvaldamise või vastuvõetavale tasemele vähendamise seisukohalt.

## **Partii**

Ühesuguse nimetuse ja ühesuguste omadustega ning ühesugustel tingimustel toodetud, valmistatud või pakendatud toidukogus.

## **pH**

ehk vesinikeksponent on negatiivne logaritm vesilahuse vesinikioonide kontsentratsioonist. pH skaala arvuline väärtus näitab, kas lahus on neutraalne (pH 7), happeline (alla 7) või aluseline (üle 7).

## **Proov, osaproov**

Kogum, mis koosneb ühest või mitmest ühikust (osaproovist) või teatavast kogusest, mis on valitud erinevatel viisidel üldkogumist või aine olulisest kogusest ning mille eesmärk on anda teavet uuritava üldkogumi või aine teatavate omaduste kohta ning mille alusel saab teha otsuse asjaomase üldkogumi või aine kohta või protsessi kohta, mille tulemusel üldkogum või aine saadi.

Osaproov on partii ühest kohast võetud proov.

## **Protsessi hügieenikriteerium**

Kriteerium, millega määratakse kindlaks tootmisprotsessi vastuvõetav toimimine. Kõnealust kriteeriumi ei kohaldata turuleviidud toodete puhul. Sellega kehtestatakse näitlik saastumisväärtus, mille ületamisel on vaja võtta parandusmeetmeid protsessi hügieeni säilitamiseks kooskõlas toidualaste õigusnormidega.

## **Eos**

Endospoor ehk püsirakk, mis on vastupidav erinevate keskkonna mõjurite suhtes, nt toitainete nappus, ebasoodne temperatuur jms.

## **Säilimisaja lõpp**

Toidukäitleja määratud säilimisaja viimane päev, mida väljendatakse „kõlblik kuni” või „parim enne” kuupäevaga tootel.

## **Toiduohutuskriteerium**

Kriteerium, millega määratakse kindlaks toote või toiduainepartii vastuvõetavus ja mida kohaldatakse turuleviidavate toodete suhtes.

## **Toidukäitleja**

Füüsiline või juriidiline isik, kelle ülesandeks on tagada toidualaste õigusnormide nõuete täitmine tema kontrollitavas toidukäitlemisettevõttes.

## **Toidu käitlemine**

On tegevus toidu tootmise, töötlemise ja turustamise etappides, kaasa arvatud import, alates toidu esmatootmisest kuni selle hoiustamise, transpordi, müügi või lõpptarbijale tarnimiseni.

**Toidu säilimisaeg**

Toidu säilimisaeg on ajaperiood, mille jooksul, rakendades määratletud säilitamistingimusi, püsib toit ohutu, säilitab soovitud kvaliteediomadused ja on inimtoiduks kasutuskõlblik.

**Valideerimine**

Protsess või uuring, millega tõendatakse, et meetod või protsess on vastuvõetav kavandatud eesmärgi saavutamiseks, samuti tõendite hankimine HACCP kava elementide tõhususe kohta.

**Valmistoit**

Toit, mille tootja või valmistaja on ette näinud vahetult inimtoiduks kasutamiseks, ilma et seda oleks mikroorganismide tõhusaks kõrvaldamiseks või nende taseme vastuvõetava piirini vähendamiseks vaja kuumutada või muul viisil töödelda.

**Vee aktiivsus ( $a_w$ )**

Mõiste tähistab sidumata ja kättesaadavat vett toidus ja ei ole sama tähendusega, kui toidu veesisaldus. Vesi toidus, mis ei ole muude molekulidega seotud, võib toetada mikroobide/mikroorganismide kasvu. Vee aktiivsuse skaala on 0 kuni 1,0 (puhas vesi), kuid enamasti jääb vee aktiivsus toitudes vahemikku 0,2 (väga kuivad toidud) kuni 0,99 (niiske toortoit).

**Verifitseerimine**

Valideerimisuuringu katsete abil tõendamine, et kasutaja rakendab ettenähtud meetodit või protsessi selle kirjelduse kohaselt. Samuti meetodite, menetluste, katsete ja muude hindamisvõtete kohaldamine lisaks seirele, mida viiakse läbi HACCP kava täitmise kindlakstegemiseks.



## Sissejuhatus

Käesolev juhend annab ülevaate toidu säilimisaja määramise põhimõtetest ning kestvuskatsete läbiviimise erinevatest etappidest. Juhendis selgitatakse toidu säilimisaja määramisega seonduvaid mõisteid, seadusandlust ning toidu säilimisajaga mõjutavaid seismisi ja väliseid tegureid.

Paljudele toidugruppidele ei ole õigusaktides kehtestatud toiduohutuse ja protsessi hügieenikriteeriume ega toidu säilitamismõnudeid. Sellisel juhul tuleb need kehtestada toidukäitlejal. Toidu säilimisaja määramisel tuleb põhirõhk asetada toidu ohutuse tagamisele, kuid oluline on ka toidu kvaliteet. Tavapäraselt on need kaks omavahel tihedalt seotud, kuid mitte alati. Seega seistakse kestvuskatsete planeerimisel sageli valikute ees: kas säilimisaja määramisel arvestada pigem toidupatogeenide ja/või riknemist põhjustavate mikroorganismide kasvudünaamikat või hoopiski toidu sensoorseid omadusi.

Vastutus toidu säilimisajade nõuetekohasuse tõendamise ees lasub toidukäitlejal. Sellest tingituna peab toidukäitleja esmalt välja selgitama toidu koostise, pH, veeaktiivsuse, pakendamiskiisi, säilitamistingimused jm, mis mõjutavad toidu ohutust ja kvaliteeti, seeläbi ka toidu säilimist. Mõnedes toitudes toimuvad säilimisaja kestel muutused pigem kvaliteedinäitajate osas, nt toitainete kontsentratsiooni ja/või toidu värvuse muutused. Teistes toitudes omavad olulisust toiduohutuse näitajad, nt *Listeria monocytogenes* kasv, mistõttu valed säilitamistingimused ja/või liiga optimistlikult kehtestatud säilimisajad võivad põhjustada otsest riski tarbijate tervisele.

Seadusandlusega ning juhenddokumentidega ei ole võimalik katta kõiki erinevaid toitusid ainuüksi juba seetõttu, et need on oma koostiselt, töötlemis- ning kasutamistingimustelt ja pakendamiskiisilt erinevad. Piisab ühe olulise toidu koostisosa, nt keedusoola sisalduse vähendamise või mõne toidu sünteetilise lisaaine asendamisest mõne taimse lisandi vastu, et muuta oluliselt nii toidu säilimisajaga kui ka ohutust. Erinevate toodete retseptuure on tuhandeid ning seega on võimatu ning ebaratsionaalne seadusandlusega kehtestada kõikidele erinevatele toitudele konkreetseid toiduohutuse ja kvaliteedi kriteeriume. Samas on toidu säilitamistingimused ning -ajad toiduohutuse vaieldamatu osa, mille eest vastutab toidu tootja ning ametlike kriteeriumide puudumisel tuleb need ettevõtte enesekontrolli tegevuste raames välja töötada ja kehtestada. Samuti on ettevõtte kohustuseks säilitamistingimuste ning toiduohutuse kriteeriumide kehtivuse tõendamine.

Riiklik järelevalve kontrollib perioodiliselt ettevõtte enesekontrolliprogrammi dokumentide õigsust ning vajadusel teeb ettekirjutisi seadusandlusega ning ettevõtte enesekontrolli dokumentides kehtestatud korra nõuetele vastavusse viimiseks. Otsuste tegemisel lähtub järelevalveametnik kehtivast seadusandlusest ning üldistest toiduohutuse tagamise põhimõtetest ja teadmistest.

## 1. Toidu säilimisaeg

Toidu säilimisaeg (inglise keeles *shelf-life*) on sageli kasutatud mõiste, mida saab erinevalt mõista ja käsitleda. Mõningaid näiteid toidu säilimisaja definitsiooni käsitlustest leiab Barbosa jt. (2002) ning Dominic Man (2015) poolt avaldatud materjalidest. Eeltoodud autorid on toidu säilimisajaga defineerinud järgnevalt:

"Toidu säilimisaeg on ajaperiood, mille jooksul etteantud temperatuuril (ning vajadusel ka etteantud hoiu- ja veotingimustel ehk säilitamistingimustel) säilitab toit mikrobioloogilise ning keemilise ohutuse ning muudele nõuetele vastavuse".

"Toidu säilimisaeg on aeg, mille jooksul toidu kvaliteet muutub aktsepteeritavast mitteaktsepteeritavaks".

"Toidu säilimisaeg on "parim enne" või "kõlblik kuni" kuupäevale eelnenud periood, kusjuures "parim enne" ehk toidu minimaalne säilimisaja tähtpäev peegeldab pigem toidu kvaliteeti ning "kõlblik kuni" pigem toidu ohutust".

"Toidu säilimisaeg on ajaperiood, mille möödudes, rakendades ettenähtud säilitamistingimusi, muutub toidu ohutus ja -kvaliteet aktsepteeritavast mitte aktsepteeritavaks ehk ajaperiood, mille möödudes toit muutub inimtoiduks kasutuskõlbmatuks".

Suurbritannia Toidu Teaduse ja Tehnoloogia Instituut (*Institute of Food Science and Technology*) määratleb toidu säilimisajaga järgnevalt: „Toidu säilimisaeg on ajaperiood, mille jooksul toit:

- 1) on ohutu;
- 2) säilitab soovitud sensoorsed, keemilised, füüsikalised, mikrobioloogilised ja funktsionaalsed omadused;
- 3) kus asjakohane, säilitades toitu ettenähtud säilitamistingimustes, vastab toidu märgistusel deklareeritud toitainelisele kooslusele“ (IFST, 1993).

Esitatud definitsioonidest lähtuvalt võib järeldada, et **toidu säilimisaeg on ajaperiood, mille jooksul, rakendades määratletud säilitamistingimusi, püsib toit ohutu, säilitab soovitud kvaliteediomadused ja on inimtoiduks kasutuskõlblik.**

Toidu mikrobioloogiliste kriteeriumite määruks (määrus (EÜ) 2073/2005) on toidu säilimisajaga käsitletud kõlblikkusajana, mis on ajavahemik kuni toidu tarvitamise tähtpäevani või minimaalse säilimisaja tähtpäevani.

Kõik esitatud säilimisaja definitsioonid on tõesed, kuid erineva rõhuasetuse ja ulatusega. Oluline on mõista, et enamiku toitude puhul on säilimisaja määramisel esmatähtis lähtuda toiduohutusest. Samas on toitusid, mis jõuavad kvaliteedi minetada enne seda, kui toiduohutuse kriteeriumid saavad ületatud või ka toitusid, mis on koostisest tingituna kaua säilivad mistõttu säilimisaja määramisel omavad tähtsust pigem kvaliteedi, nt värvuse, konsistentsi ning toitainete sisalduse muutused ajas.

## 2. Toidu minimaalse säilimisaja ning tarvitamise tähtpäev

Vastavalt toiduseadusele (ToiduS) määrab toidukäitleja (-tootja, töötaja, sh valmistaja, või pakendaja) toidu säilitamisinõuded, sealhulgas toidu minimaalse säilimisaja või tarvitamise tähtpäeva, ning säilitamistingimused, hinnates toidu ohutust ning toidu vastavust teistele nõuetele, nt kvaliteedinõuetele.

"Toidu minimaalse säilimisaja tähtpäev" on tähtpäev, milleni nõuetekohase säilitamise korral säilivad toidu spetsiifilised omadused. Toitude puhul, mis mikrobioloogiliselt kiiresti riknevad ning võivad seetõttu lühikese ajaga muutuda inimtoiduks kõlbmatuks (edaspidi: *kiirestiriknev toit*), tuleb minimaalse säilimisaja tähtpäev asendada toidu tarvitamise tähtpäevaga. Pärast

tarvitamise tähtpäeva ei loeta toitu enam ohutuks. Kui toitu tuleb säilitada ja/või kasutada eritingimustes, märgitakse need tingimused pakendile. Toidu nõuetekohaseks säilitamiseks või kasutamiseks pärast pakendi avamist märgitakse vajaduse korral säilitamise tingimused ja/või aeg, mille jooksul tuleb toit ära tarvitada.

## 2.1. Minimaalse säilimisaja tähtpäev

Minimaalse säilimisaja tähtpäev märgitakse järgnevalt:

tähtpäeva ees on sõnad "Parim enne .....", kui tähtpäev sisaldab päeva ning muudel juhtudel "Parim enne .... lõppu". Eelnimetatud sõnadega kaasneb tähtpäev või viide tähtpäeva asukohale märgistusel. Vajaduse korral järgneb eelmainitud andmetele säilitamistingimuste kirjeldus, mida tuleb järgida, et toode nimetatud aja jooksul säiliks. Tähtpäev koosneb päevast, kuust ja võimalusel aastast kodeerimata kujul samas järjekorras. Toitude puhul, mis ei säili üle kolme kuu, piisab päeva ja kuu märkimisest. Toitude puhul, mille säilimisaeg on üle kolme kuu, kuid mitte üle 18 kuu, piisab kuu ja aasta märkimisest. Toitude puhul, mille säilimisaeg on üle 18 kuu, piisab aasta märkimisest (määrus (EÜ) 1169/2011).

Minimaalset säilimisaega ei ole vaja märkida järgmiste toitude puhul (määrus (EÜ) 1169/2011):

- koorimata, tükeldamata või muul samalaadsel viisil töötlemata marjad, puu- ja köögiviljad, sealhulgas kartulid ja seemned; see erand ei kehti idandatavate seemnete ja kaunviljaidudega samalaadsete toodete suhtes;
- veinid, liköörveinid, vahuveinid, aromatiseeritud veinid ja sarnased tooted, mis on saadud muudest puuviljadest kui viinamarjad;
- joogid, mille etanoolisisaldus on vähemalt 10 mahuprotsenti;
- liht- ja valikpargaritooted, mille koostise järgi võib eeldada, et neid tarbitakse 24 tunni jooksul pärast valmistamist;
- äädikas;
- keedusool;
- tahke suhkur;
- kondiitritooted, mis koosnevad peaaegu ainult maitsestatud ja/või värvitud suhkrutest;
- närimiskummid ja samalaadsed tooted.

## 2.2. Tarvitamise tähtpäev

Toidu tarvitamise tähtpäev esitatakse järgnevalt:

Tarvitamise tähtpäevale eelnevad sõnad "kõlblik kuni ...." ning nimetatud sõnadega kaasneb tähtpäev või viide tähtpäeva asukohale märgistusel. Neile andmetele järgneb säilitamistingimuste kirjeldus, mida tuleb järgida. Tähtpäev koosneb päevast, kuust ja võimalusel aastast kodeerimata kujul samas järjekorras. Kui müügipakendis toode koosneb kahest või enamast eelnevalt pakendatud ühikust, mis sisaldavad sama koguse sama toodet, soovitage märkida tarvitamise tähtpäeva iga üksiku toote pakendile.

Eeltoodu selgitas, kuidas tuleb tarbijatele esitada toidu säilimisajaga seonduvat teavet toidu märgistamisel. Samas võib mõningatel juhtudel tekkida olukord, kus ei osata otsustada, kas on tegemist kiiresti rikneva toiduga või mitte, kas kasutada "kõlblik kuni" või "parim enne" sõnapaari? Järgnevalt on kirjeldatud mõned näited, mis on abiks vastavate otsuste tegemisel.

### Näide 1

Toidu koostis soodustab säilimisaja jooksul nii patogeenide kasvu kui ka toidu riknemist põhjustavate mikroorganismide kasvu, kuid patogeenide arvukus saavutab inimese tervisele ohtliku taseme enne kui toit jõuab tajutavalt rikneda.

Sellisel juhul tuleb märgistusel kasutada "kõlblik kuni" ehk toidu tarvitamise tähtpäeva.

## Näide 2

Toidu koostis soodustab säilimisaja jooksul nii patogeenide kui toidu riknemist põhjustavate mikroorganismide kasvu, kuid toit läheb tajutavalt riknema enne kui patogeenide arvukus saavutab inimese tervisele ohtliku taseme.

Märgistusel võib olla sobilik kasutada "parim enne" ehk toidu minimaalse säilimisaja tähtpäeva. "Parim enne" on antud stsenaariumit arvestades sobilik kasutada juhtudel, mil toit ei rikne kiiresti. Kiirestirikneva toidu puhul tuleb märgistusel esitada tarvitamise tähtpäev ("kõlblik kuni").

## Näide 3

Patogeenid võivad toidus väikese tõenäosusega esineda, kuid nende arvukus on väga madal (inimese tervisele ohutu tase) ning nad ei ole võimelised toidus paljunema. Toidu riknemist põhjustavad mikroorganismid võivad toidus kasvada tasemeni, mis põhjustab toidu tajutava riknemise või toit rikneb keemiliste reaktsioonide, nt rääsumise tagajärjel.

Sobiv on kasutada "parim enne" ehk toidu minimaalse säilimisaja tähtpäeva.

## 3. Toidu säilimisaja määramine

Toidu säilimisaja määramisel tuleb esmalt tutvuda erialase kirjandusega (juhenddokumendid, õppekirjandus ning kehtiv seadusandlus) ja pidada vajadusel nõu erinevate ekspertidega, nt teadusasutused, laboratooriumid, järelevalveasutused, toiduohutuse konsultandid. Enne toote säilimisaja määramist on vaja kindlustada tootmisprotsessi stabiilsus ehk tõestada, et suudetakse tagada samade omadustega, nt happesus, niiskusesisaldus jms, toidu tootmine. Stabiilsus tagatakse siis, kui toiduainete käitlemisel rakendatakse järjepidevalt õigeid töövõtteid, järgitakse ettevõtte HACCP-plaani ning nõuetekohasuse tõendamise meetoditega on tõestatud, et toiduohutuse süsteem (nt HACCP) on efektiivne. Enesekontrollisüsteemi nõute- ja kasutuskohasus on stabiilse säilimisaja eeltingimus. Toidu säilimisaeg ja säilitamistingimused määratakse toidule, mille koostis ning töötlemis-, pakendamise- ning säilitamistingimused on määratletud.

Toidu säilimisaja määramiseks kestvuskatsetega tuleb arvestada statistiliseks töötlemiseks piisava arvu partiide analüüsidesse kaasamisega.

Proovid peavad olema esinduslikud ehk osaproovid tuleb võtta juhusliku valimina, mille korral partii igal eri osal on sama tõenäosus valimit moodustada.

Toit peab kogu kõlblikkusaja jooksul vastama nii mikrobioloogilistele, keemilistele kui ka muudele toidule kehtestatud nõuetele. Toidu nõuetekohasust hinnatakse proovi organoleptiliste, füüsikaliste, keemiliste, mikrobioloogiliste näitajate järgi. Eeltoodu mõistmine on säilitamisaegade määramisel oluline, sest annab meile teada, et toidu säilimisaegade määramisel tuleb laboratoorsete analüüsides valikul teha otsuseid, mis lähtuvad toidu koostisosadest, toidu pakendamisest, toidu säilitamise tingimustest ning ka teistest toidu ohutust ja toidu riknemist mõjutavatest teguritest. Uuritavate näitajate valikust ning nende kombinatsioonist sõltub kestvuskatsete mõttekus ning lõppkokkuvõttes toidule kehtestatud säilimisaja õigsus.

Eesti tavapraktikas keskendutakse toidu säilimisaegade määramisel enamasti toidu mikrobioloogilistele analüüsidesse. Samas, eelnevate kogemuste ning seadusandlusest tulenevate kriteeriumide puudumisel on toidukäitlejatel endil suhteliselt raske määratleda, milliste mikroorganismide suhtes tuleks toitu analüüsida ning millised on konkreetse toiduga seonduvad toiduohutuse kriteeriumid. Sellisel juhul oleks mõttekas kestvuskatsetele eelnevalt teostada, nn eelkatset, kus juba ettevõttes selgitatakse välja, millise aja jooksul etteantud

säilitamistingimusi järgides läheb toit sensoorselt tajutavalt (lõhn, maitse, välimus) riknema. Viimane ei ole toidu säilimisaja määramise aluseks, kuid võimaldab toidukäitlejal hinnata toidu säilimise ligikaudset aega. Saades teada toidu riknemisele vahetult eelnevate päevade mikroorganismide arvukuse toidus, tekib ettekujutus võimalikest säilimisaja määramise aluseks olevatest mikrobioloogilistest kriteeriumitest. Eelkatsete põhjal saab toidukäitleja teada toidu prognoositava säilimisaja, mis võetakse aluseks ametlike kestvuskatsete planeerimisel.

Toidu säilimisaja määramisel tuleb toidukäitlejal mõelda võimalikele külmaahela rikkumistele, nt kehtestatud säilitamistemperatuuri lühiajalisele kõikumisele. Kui viimasega arvestada, siis tuleb kestvuskatsed planeerida nii, et paralleelselt läbi viidavates katseseeriates rakendatakse nii kehtestatavat säilitamistemperatuuri kui ka sellest paar kraadi kõrgemat. Viimane imiteerib külmaahela lühiajalise rikkumise võimalikku mõju konkreetse toidu säilimisele. Juhul, kui käitleja määrab toidu säilitamistemperatuuriks 2-6 °C, siis peaks kestvuskatsed teostama 6 °C juures ehk määratud temperatuurivahemiku maksimaalse piiri juures, seda nii käitleja juures kui ka laboratooriumis säilitamise puhul.

Järgnevalt käsitletakse toidu säilimisaja määramist etappide viisi loogilises järjekorras. Juhul, kui toidukäitlejal on sarnaste toodete kestvuskatsete planeerimise ja läbiviimisega juba eelnevad kogemused, siis võib säilimisaja määramise tegevuste nimekiri olla alltoodust lühem.

### 3.1. Säilimisaja määramise etapid

Säilimisaja määramisel:

**Koosta detailne tootekirjeldus**, mis sisaldab vähemalt järgmisi andmeid:

- 1) toidu nimetus;
- 2) valmistoodet ja selle koostisosi iseloomustavad näitajad k.a. koostisosade, sh liitkoostisosade nimekiri ning iga koostisosa kirjeldus;
- 3) kasutatavad tehnoloogilised võtted ning seonduvad töötlemisparameetrid, eelkõige need, mis on olulised toidu ohutuse seisukohast;
- 4) toiduohutuse ja kvaliteedi kontrollimise meetmed ja parameetrid;
- 5) toidu pakendamine ning pakendite spetsifikatsioonid;
- 6) toidualase teabe esitamise kirjeldus k.a. säilimisaja esitamine;
- 7) säilitamistingimused k.a. veol ja müügil;
- 8) kasutusjuhised;
- 9) toidu mikrobioloogiline kirjeldus, k.a. piirväärtused;
- 10) seadusandlusest tulenevad muud nõuded.

Sõltuvalt toidust võib andmeid olla rohkem.

#### **Selgita välja toidu võimalikud riknemis- ja/või kvaliteedi kaotamise viisid ning toiduohutust mõjutavad näitajad.**

Toidu ohutust/ohklikkust ja/või riknemist võivad põhjustada mikrobioloogilised, keemilised ja füüsikalised mõjurid. Toidu riknemist ning säilimisajaga mõjutavad nii tootest (kasutatavad toorained ning toote koostis; vee aktiivsus ( $a_w$ ), pH, hapniku olemasolu ning kasutatavad toidu lisaained k.a. konservandid) kui toidu käitlemisest tingitud näitajad (töötlemine, pakendamine, säilitamine jt.). Kvaliteedi langemine võib olla tingitud niiskuse suurenemisest või kaotusest, toidu värvuse ja lõhna muutustest ning toitainete kaost. Vajaduse korral tuleb määrata toidu pH, vee aktiivsus jms.

**Määratle, milline toidu riknemisviis on kõige olulisem ja millised muutused ilmnevad esimesena.**

Üks riknemisviis, nt mikrobioloogiline riknemine, võib domineerida toidu keemilise riknemise, nt rääsumise üle. Säilimisaja määramisel on oluline, kas toidu säilimist mõjutab enam toiduohutus või toidu kvaliteet. Juhul, kui toiduohutuse kriteerium saab ületatud esimesena, määratakse säilimisaeg toiduohutuse kriteeriumite järgi. Juhul, kui toidu kvaliteedi kriteeriumid saavutavad vastuvõetamatu taseme enne, kui toiduohutuse kriteeriumid saavad ületatud, võetakse säilimisaja määramisel arvesse toidu kvaliteedi kriteeriume.

**Ohuanalüüsiga selgita välja konkreetse toiduga seonduvad olulised bioloogilised, keemilised ja füüsikalised ohud ning nende mõju toidu säilimisele.**

**Määratle, millistel tingimustel (ka temperatuuril) tuleb toitu vedada ning säilitada.**

Arvesta seadusandlusest (määrus (EÜ) 2073/2005) tulenevate nõuetega, nt kui tegemist on valmistoiduga, milles *L. monocytogenes*’e kasv on võimalik, siis tuleb toidu säilimisnõuete määramisel määrata ka patogeeni arvukus. Oluline on mõista, et turuleviidav toit peab olema ohutu inimese tervisele.

Säilitamistingimuste määratlemisel arvesta, et tooraineid, koostisosi (sh liitkoostisosi), pooltooteid ja lõpptooteid, milles võivad paljuneda patogeensed mikroobid või tekkida toksiidid, ei tohi hoida temperatuuril, mis võib põhjustada ohtu inimese tervisele. Külmaahelat ei tohi katkestada. Määrusega (EÜ) 852/2004 on siiski lubatud ettenähtud temperatuurist kõrvalekaldumine piiratud ajaks, kui see on vajalik käsitsemisest tulenevatel asjaoludel toidu valmistamiseks, veoks, hoidmiseks, väljapanemiseks ja serveerimiseks, tingimusel, et see ei põhjusta riski inimese tervisele. Säilitamistemperatuuride kehtestamisel tuleb arvestada reaalse temperatuuridega jaekaubanduse ja tarbija tasandil, mis võib olla pigem kõrgem kui madalam.

**Kestvuskatsete läbiviimise planeerimisel määratle toidu/toote oletuslik säilimisaeg ning kirjelda hindamise meetodeid, millega kinnitatakse eelnevalt püstitatud säilimisaja õigsust.**

Esmalt **mõtesta läbi proovivõtukava** ning leia vastused järgmistele küsimustele:

- Millised laboratoorsete analüüside liigid (mikrobioloogilised, keemilised, sensoorsed) oleksid õigustatud?
- Millised on kehtivad (ka varem kehtinud) või uueks eesmärgiks seatud (nt katse-eksitus meetodi alusel) piirnormid?
- Kui suur peaks olema uuritavate partiide arv ja partiide tootmise aeg?

**Märkus:** tavaliselt valitakse aastaaeg, mis võib enim probleeme põhjustada, nt suvi.

- Kui mitu proovi võtta ühest toidupartiist ning kui mitu erinevat partiid on vaja kestvuskatsesse kaasata?

**Märkus:** Kui õigusaktiga sätestatakse konkreetne nõue uuritavate proovide arvule, tuleb viimasest lähtuda. Kui seadusandlusega ei ole määratletud uuritavate proovide arvu, siis tuleb see kehtestada enesekontrolli plaanis lähtuvalt riskihinnangust.

- Kas lasta analüüsida kõik toidu proovid (nn osaproovid) eraldi või lasta teostada koondproovide analüüs?

**Märkus:** kui seadusandlus seda ei sätesta, siis on see analüüsi tellija otsustada.

- Kas oleks vaja teostada katsed ka toote avatud pakenditega, jälgendades toidu säilimist kaupluse müügiletis või kodus külmkapis pärast pakendi avamist?

**Kestvuskatse planeerimise arutelu tuleb dokumenteerida.**

Juhul, kui eeltoodud küsimustele on vastatud, siis **teosta kestvuskatsed**.

Proovide võtmisel tuleb arvestada toodangu heterogeensusega ning lihtsa juhuvalimi meetodi põhimõtetega, nt kasutades Excel programmis funktsiooni =RAND.

Kestvuskatsete ajal tuleb tooteid säilitada määratletud säilitamistingimustel. Säilitamismõõdud määratakse eraldi iga toidu kohta või samalaadsetele koostis-, pakendi-, valmistamis- ja pakendamismõõdetele ning tehnilises kirjelduses toodud muudele nõuetele vastava toidugrupi kohta.

Tavapäraselt rakendatakse järgmisi säilitamistingimusi:

- külmutatud toidud: -18 °C või madalam temperatuur;
- jahutatud toidud: +2 °C kuni +6 °C;
- toatemperatuur: +20 °C kuni +22 °C;
- troopiline temperatuur: +38 °C;
- kuumana säilitatav toit: mitte all 63 °C.

Säilitamistingimuste määratlemise kõrval on oluline ka pakendamistingimustega arvestamine, nt sama toode jaepakendis või hulgipakendis. Viimane avatakse müügiletis, seega kestvuskatsetegemisel tuleb imiteerida müügitingimusi ning arvestada võimalusega, et pakend avatakse juba esimesel säilimispäeval. Sel puhul tuleb arvestada tarbijatele lisainfo andmise vajadusega, nt säilimisaeg pakendi avamisel. Samuti eeldab see vastavate kestvuskatsete läbiviimist.

#### **Pärast kestvuskatsete tulemuste selgumist vii läbi analüüsitulemuste põhjalik analüüs.**

Juhul, kui kestvuskatsete tulemused ei ole ootuspärased, nt ei ole toidukäitleja rahul säilimisaja pikkusega, siis tuleb muuta toote koostist (retseptuuri) ja/või tehnoloogiliste etappide parameetreid (nt teostada kuumtöötlemine kõrgematel temperatuuridel, alandada pH d, muuta toidus kasutatavate lisaainete kontsentratsioone) ning teostada seejärel uued kestvuskatsed.

Juhul, kui tulemuste analüüsimisest lähtuv info on piisav ning ootuspärane, siis mõtle ka **puhveraja kehtestamise võimalusele**, sest kestvuskatsed teostatakse enamasti ideaaltingimustes, kus külmaahela rikkumised on välistatud. Igapäevased turustamistingimused ei pruugi külmaketi katkematust tagada ning isegi lühiajalised külmaketi katkestamised mõjutavad toidu säilimisaega, reeglina selle lühenemise suunas. Kui toidukäitleja poolt esitatud toiduohutuse ja/või -kvaliteedi kriteeriumid ületati laboratooriumis näiteks kümnendal kestvuskatsepäeval, siis puhverajaga koos võiks säilimisaeg olla maksimaalselt üheksa päeva. Eeltoodu on vaid näide ning puhveraja nõuet otseselt seadusandlusest ei tulene.

Kui teed kestvuskatseid mitme katseseeriana ning tulemused on varieeruvad, siis tuleb leida erinevuste põhjused, teha vajalikud korrektuurid ning teostada säilimisaja määramiseks uus katseseeria.

#### **Seejärel kehtesta säilimisajad ning alusta toote turustamisega.**

#### **Hinda säilimisaegade nõuetekohasust vastavalt enesekontrolli plaanis kehtestatud sagedusele.**

Pea meeles, et tootmis- ja töötlemistingimuste, pakendamise ning toote koostise muutuste järgselt tuleb teostada uued kestvuskatsed.

Tõsiselt tuleb suhtuda enne säilimisaja lõppu esinevate tooteprobleemidega seonduvatesse tarbijakaebustesse. Lisaks tüüp-probleemide identifitseerimisele võivad kaebused viidata säilimisaja ümberhindamise vajadusele.



Säilita oma ettevõttes igast tootepartiist mõned tooteproovid ettenähtud säilitamistingimustes, et tarbija(te) kaebuste korral tõestada toodete nõuetekohasust ja tõendada, kas antud probleem on tingitud toidu käitlemisest ettevõttes või mitte.

**Registreeri ning säilita kõik andmed, mis seonduvad toidu säilimisaja määramisega**, olgu selleks laboratoorsete analüüside vastused, tarbijate kaebused või probleemide lahendamisega seonduv.

Säilimisaja määramisega seonduvatest dokumentidest peab selguma:

- millise tootega on kestvuskatsed tehtud (toote iseloomustus, pakend, netokaal, koostis, jms.)?,
- mille alusel ja kuidas koostati proovivõtuvalim?,
- millises etapis (nt valmistamise või pakendamise järgselt) võeti proovid ning millised on proovide säilitamise tingimused proovide võtmise ja analüüsimise vahel?,
- millistele allikatele (õigusakt, juhend jms.) tuginedes on kestvuskatsed tehtud?,
- milliste mikrobioloogiliste ja/või keemiliste näitajate suhtes analüüsid teostati?,
- millised olid näitajatele kehtestatud kriteeriumid ning mis oli kriteeriumite valiku aluseks?,
- millised analüüsimetoodikaid kasutati?,
- milline laboratoorium teostas analüüsid?,
- milline oli analüüside arv, mitut partiid uuriti ning mitut (osa)proovi partii ulatuses uuriti?,
- milline oli analüüside sagedus kestvuskatse jooksul ehk mis etapil analüüsid teostati (nt kestvuskatse alguses, keskel, lõpus või mõnel muul nende vahepealsel etapil)?,
- millistel säilitamistemperatuuridel on kestvuskatse jooksul proove säilitatud ning mis on vastavate säilitamistemperatuuride aluseks?,
- millisel aastaajal on kestvuskatsed teostatud (koos valiku põhjendusega)?,
- millised olid analüüsitulemused (esitada katseprotokollide kujul)?,
- millised on järeldused ja otsused tehtud kestvuskatsete kohta?,
- milline on edasine tõendamissagedus (koos põhjendusega)?

Peatüki koostamisel kasutati mitmeid kirjandusallikaid, nt NFSA (2005), NZG (2014), Dominic Man (2015).

### 3.2. Säilimisaja määramine liittoitudele

Juhul, kui tegemist on toiduga, mis koosneb kahest või enamast erinevast toidust, nt jogurt marjakastmega või pakendatud valmiseine, tuleb säilimisaja määramisel võtta arvesse liittoidu koostises oleva iga toidu säilimisajaga eraldi. Säilimisajag ei tohi ületada liittoidu koostisse kuuluva lühima säilimisajaga toidu säilimisaja väärtust, ehk kui säilimisajaks on määratud jogurtil 2 nädalat ning moosil 6 nädalat, siis sellele toidule kehtestatud säilimisajag peab olema 2 nädalat.

### 3.3. Säilimisaja määramise meetodid.

Toidu säilimisajag määratakse tavapäraste kestvuskatsete alusel. Mõningatel juhtudel võib tekkida vajadus kasutada nakkuskatseid ja/või ennustus- ehk prognoosmudeleid.



### 3.3.1 Kestvuskatse

Toidu kestvuskatsed (inglise keeles *durability studies*) võimaldavad määrata toidu säilimisaega, säilitades toitu ettenähtud säilitamistingimustes. Toiduanalüüsid võivad olla mikrobioloogilised, füüsikalised-keemilised ja organoleptilised.

### 3.3.2 Nakkuskatse

*Challenge*-testi ehk nakkuskatset kasutatakse teatud toitude/toodete ohutuse ja säilimisaja määramiseks, hinnates konkreetsele toidule spetsiifiliste ning tooraines võimalikult esinevate patogeeni kasvu ja/või nende poolt toksiinide tootmise võimekust. Katse käigus viiakse kindel kogus/kontsentratsioon uuritavat patogeeni toitu ning etteantud temperatuuri ja aja vältel hinnatakse patogeeni kasvupotentsiaali ( $\delta$ ). Seega, nakkuskatsega on võimalik määrata, kas patogeeni(id) võivad konkreetsetes toidus eluvõimelistena püsida ja/või kasvada (paljuneda) ning kui kiiresti nad toidus paljunevad.

Kasvupotentsiaal ( $\delta$ ) sõltub:

toote sisemistest omadustest (pH, aw, NaCl sisaldus, säilitusained ning nende sisaldus, mikrobioota, toidu struktuur jms);

välimistest omadustest (nt säilitamistingimused, gaasikeskkond);

inokuleeritud (toitu sisse viidud) tüvedest (mikroobi erinevate tüvede kasv varieerub)

mikroobi füsioloogilisest seisundist (nt külmašokk, osmootne stress).

Nakkustesti on võimalik kasutada ka kehtestatud säilimisaja valideerimise eesmärgil.

Nakkuskatsete tulemusena saadud kasvupotentsiaali väärtus  $>0,5 \log_{10}$  pmü/g osutab faktile, et toit toetab uuritava mikroobi kasvu (EVS-EN ISO 20976-1:2019).

Toidu säilimisaja valideerimine (kasutuskohasuse tõendamine) on igasuguste tõendite hankimine ja nende dokumenteerimine, millega tõendatakse, et kehtestatud säilimisaeg on tõene ja, et toit on kuni säilimisaja lõpuni ohutu ja/või kvaliteetne (FSAI, 2017).

Nakkuskatse läbi viimisel tuleb arvestada, et:

- toit peab olema sama, mida müüakse tarbijale;
- toitu viidavate patogeeni arv peab olema kooskõlas uuringu eesmärgiga, nt kui valmistoitu saastatakse vähesel hulgal mingi toidupatogeeni, siis kas vastav patogeeni on säilimisaja vältel võimeline kasvama toidus inimese tervisele ohtliku tasemeni? Seda infot saab arvesse võtta "kõlblik kuni" tähtpäeva määramisel;
- bakterite toitu külvamise meetod peaks peegeldama toidu saastumise tavapäraseid viise, nt viilutatud toodete puhul toidu saastumine viilutaja kaudu/vahendusel, ehk bakterid kantakse viilutatud toote pinnale;
- tahtlikult laboratooriumi tingimustes „nakatatud“ toit tuleb seejärel pakendada ning pakend sulgeda, jälgendades toidu tavapärasest pakendamist ja jaekaubandusmüügi viisi;
- säilitamistemperatuurid peavad matkima toote tavapäraseid säilitamistingimusi, kuid soovitatav on paralleelselt säilitada mõned proovid ka temperatuuridel, mis jälgendavad võimalikke temperatuurirežiimide rikkumisi või tarbija käitumisharjumusi kodus;
- toitude puhul, milles võivad kasvada olulisel määral riknemist põhjustavad mikroorganismid, võib määrata ka nende arvukuse katseseeria jooksul, kuna toiduainete riknemist põhjustavate mikroorganismide kasv võib oluliselt mõjutada patogeeni kasvu toidus;
- kõik nakkuskatse teostamise üksikasjad tuleb dokumenteerida;
- analüüsid tuleb teostada laboratooriumis, mis omab teadmisi nakkus- ja kestvuskatsete tegemiseks vastavalt Euroopa Liidu *Listeria monocytogenes*-e valdkonna referentlaboratooriumi koostatud dokumendi (EURL Lm, 2018) nõuetele.

### 3.3.3 Matemaatiline prognoosmodel

Matemaatiliste prognoosmodelite koostamise aluseks on laboratoorsete mikrobioloogiliste analüüside teel saadud andmed ning arvutitarkvara, mis võimaldab graafiliselt kirjeldada mikroorganismide kasvu dünaamikat, rakendades erinevaid seismise ja väliste tegurite kombinatsioone. Seega on mudelite lähteandmeteks tavaliselt asjaomase toote füüsikalised ja keemilised näitajad: pH, vee aktiivsus, soolasisaldus, säilitusainete kontsentratsioon, säilitamistingimused jms. Teised lähteandmed on seotud uuritava mikroorganismi kasvutingimustega. Kuigi prognoosmodelid on viimasel ajal teinud läbi suure arenguhüppe, eeldab nende kasutamine mudelite tööpõhimõtete põhjalikku tundmist ning nende puudustega arvestamist, seetõttu on nende kasutamine mõneti komplitseeritud ning modelleerimise teel saadud tulemusi ei saa otseselt kasutusele võtta toidu säilimisajaga kehtestamisel. Pigem on tegemist kasuliku eelinfo, mis annab teada, kuidas ühe või teise toote koostisosa ja/või tootmis- ning töötlemisparameetri muutmine võib mõjuda uuritavate mikroorganismide kasvule. Kasutusel on nii riknemist põhjustavate mikroorganismide kui ka patogeenide põhised, nn "ennustava mikrobioloogia", modelid. Mudelite valideerimine toimub reeglina konventsionaalsete mikrobioloogiliste analüüsidega.

Antud hetkel saab prognoosmudeleid edukalt kasutada uute toodete välja töötamisel (või toodetavate toitude koostise muutmisel) toidu koostise mõju hindamiseks toidu ohutusele ja riknemisele. Samuti saab välja selgitada toidu koostise modifitseerimise mõju sihtmärk-mikroorganismide kasvule, näiteks, kuidas mõjutab soola- või suhkrusisalduse muutmine *L. monocytogenes* kasvupotentsiaali toidus ja/või toote prognoositavat säilimisajaga.

Seega, ennustava mikrobioloogia mudelite kasutamine ei suuda veel asendada laboratoorseid analüüse ega kogenenud mikrobioloogide poolt antavaid hinnanguid. Olemasolevate prognoosmodelite peamiseks puudusteks on:

- olulise informatsiooni puudumine, nt riknemise valdkond ning riknemismäär;
- enamik mudelitest on välja töötatud laboratooriumi kontrollitud tingimustes, kasutades spetsiaalseid toitekeskkondi (laboratoorsed söötmeid), kuid komplekssetes toidumaatriksites (nt. liitoidud) need ennustused sageli ei toimi;
- erinevate mikroorganismide koostoimeid ei võeta arvesse;
- ei arvestata lag-faasi (mikroorganismide kohanemisfaasi), sest enamasti hinnatakse keskkonnategurite mõju spetsiifilise mikroorganismi maksimaalsele kasvumäärale. Lag-faasi ignoreerimine põhjustab aga säilimisaja alahindamist;
- enamik mudelitest on valideeritud kindlate temperatuuride järgi ning temperatuurirežiimide võimalikke kõikumisi ei ole valideerimisel arvestatud.

Prognoosmodelite väljatöötamine ning arendamine toimub aga pidevalt ning tulevik töötab olla helge. Suure tõenäosusega suudetakse välja töötada ka selliseid mudeleid, mis tulevikus suudavad konkureerida laboratoorsete ehk konventsionaalsete kestvuskatsete täpsusega. Viimane sõltub suuresti mudelite sisendparameetrite mitmekülsusest ja kvaliteedist.

### 3.4. Analüüside sagedus kestvuskatse jooksul

Kestvuskatse teostamise detailse plaani (partiide ja nende proovide arv, analüüside sagedus ja ajastus, uuritavad toiduohutuse ja/või kvaliteedi näitajad) koostab ning esitab analüüsilaborile toidukäitleja.

Säilimisaja määramiseks tuleb analüüsida mitut (vähemalt kolme) toidupartiid. Mitme partii uuringud on vajalikud partiide varieeruvuse kindlakstegemiseks, sest toidu säilimisajaga mõjutavad nii toidu koostisosade kvaliteet, tootmishügieen ning ka teised muutujad. Samuti on vajalik ühest partiist mitme (osa)proovi uurimine. Osaproovide arv peab minimaalselt olema kolm, kui seadusandluses pole kehtestatud teisti, nt nõuab mikrobioloogiliste kriteeriumide

määrus valmistoitutes *L. monocytogenes*'e tuvastamiseks ja/või arvukuse määramiseks vähemalt viie osaproovi analüüsimist (määrus (EÜ) 2073/2005).

Analüüside sagedus kestvuskatse ajal sõltub toidu omadustest ning riknemise kiirusest. Kiirestirikneva toidu korral (lühike säilimisaeg) on mõttekas toitu analüüsida iga päev või harvadel juhtudel isegi teatud tundide järel. Kindlasti on mõttekas analüüsida teostada säilimisaja esimesel päeval ja prognoositaval "kõlblik kuni" päeval.

Pika säilimisajaga toitude säilimisaegade määramisel oleneb see prognoositava säilimisaja pikkusest, kuid enamasti 1 kuni 2 korda nädalas, kusjuures soovitatavalt toidu säilimisaja alguses (nullpäev) ning kindlasti prognoositaval viimasel säilimispäeval. Mõttekas oleks analüüside arvukust tõsta toidu oletusliku tarvitamise tähtpäeva lähenedes. Juhul, kui toit ei ole prognoositud viimasel säilimispäeval veel riknenud, tuleb kestvuskatset jätkata. Kestvuskatse lõpetamiseks piisab kehtestatud kriteeriumi(de) ületamisest. Need reeglid tuleb analüüsi teostava laboratooriumiga kestvuskatsete teostamisele eelnevalt kokku leppida.

### 3.5. Uuritavad partiid ning proovide arv

Kui toidule või selle grupele on kehtestatud nõuded õigusaktis, tuleb neist kindlasti juhinduda. Enamasti võetakse proovide arvu määramisel arvesse õigusaktides kehtestatud nõudeid, ettevõtte varasemaid kogemusi sarnaste toodete säilimisaegade määramisel ning statistilise miinimumi nõuet.

Mikroorganismid jaotuvad toidus ebaühtlaselt ning üksikproovi analüüsimine ei peegelda toidu tegelikku ohutust ning kvaliteeti. Eeltoodu kehtib lisaks mikrobioloogilistele näitajatele ka toidu sensorsete ja keemiliste näitajate korral.

Mõne toiduainetööstuse jaoks on probleemiks tootearendusega seonduvad ajapiirangud, eriti stabiilsete ehk pika säilimisajaga (nt pikem kui 12 kuud) toitude puhul, sest ajaperiood säilimisaja määramise analüüside teostamiseks võib olla väga pikk. Näiteks on paljude kuumsteriliseeritud konservide säilimisajaks kuni kaks aastat. Viimase eeltingimuseks on aga see, et termilise töötlemise käigus tuleb hävitada kõik patogeensed ning enam kui 99% kõikidest mikroorganismidest. Sellises olukorras, kus tegemist on prognoositavalt pika säilimisajaga toodetega, millele soovitakse määrata objektiivset säilimisaega, võib mõelda "kiirendatud" uuringute (inglise keeles *accelerated tests*) läbiviimisest, kus toidukäitleja laseb kestvuskatsed teostada kõrgendatud säilitamistemperatuuridel, nt tavapärase toatemperatuuri (+20 °C) asemel märkimisväärselt kõrgemate (nt +50 °C) temperatuuride juures. See kiirendab oluliselt riknemisprotsessi kulgu ning võimaldab tootjal suhteliselt mõistliku aja jooksul saada olulist informatsiooni toidus toimuvatest riknemisprotsessidest, mida omakorda saab arvestada säilimisaegade kehtestamisel. Sellegipoolest on eeltoodu mõttekas vaid juhtudel, kus toidu riknemismuster (riknemist põhjustavate mikroorganismide kooslus) üksnes kõrgendatud temperatuuridest tingituna oluliselt ei muutu. Antud näide puudutab vaid mõningaid tootjaid ning on õigustatud vaid juhtudel, kus eri(temperatuuri)tingimustes teostatud kestvuskatsete tulemusi osatakse säilimisaja määratlemisel objektiivselt kasutada.

## 4. Toidu riknemine ja säilimisaega mõjutavad tegurid

Toidu riknemine on reeglina tingitud või mõjutatud:

- 1) toorainetest (kvaliteet, säilitamistingimused);
- 2) toidu valmistamisest/töötlemisviisist (kasutatavad koostisosad ning nende koostmõju mõjutab otseselt mikroorganismide liigilist kooslust ning nende arvukust, see omakorda säilimisaega);
- 3) toidu veeaktiivsusest ehk toidus olevast vabast vee kogusest, mida mikroorganismid saavad kasutada (veeaktiivsust saab vähendada suhkrute ja soolade ning teiste ainete lisamisega toidule);
- 4) pH-st ehk toidu happelisuse ja aluselise määra – mõjutab otseselt seda, millised mikroorganismide liigid on võimelised eluvõimelisena püsima ja/või paljunema toidus, nt värske kala säilimisaeg on lühikene, kuid äädikamarinaadis kala säilib märkimisväärselt kauem;
- 5) hapniku olemasolust või puudumisest nt vaakumisse pakendamine (VP) või gaasikeskkonda pakendamine (MAP, *modified atmosphere packaging*). VP ja MAP võib oluliselt pikendada teatud toitude säilimisaega;
- 6) toidu lisaainetest, pakendamisest ning toidu säilitamistingimustest, st temperatuur, aeg, õhuniiskus jne

Toidu riknemist saab selgitada ühe või rohkema järgnevalt nimetatud mehhanismi kaudu (Man, 2004):

- niiskuse ja/või veeauru ülekanne, mis põhjustab niiskuse sisalduse suurenemist või vähenemist toidus;
- hapniku, lõhnade ja maitsete ülekanne toidule;
- valgusest (päevavalgus või tehisvalgus) tingitud muutused;
- keemilised ja/või biokeemilised muutused;
- mikrobioloogilised muutused;
- teised mehhanismid või muutused, mis põhjustavad toidu kvaliteedi halvenemist kas ühe või mitme eelmainitud teguri tõttu, nt kahjuritest tingitud pakendikahjustused;
- temperatuurist, mis on kõige olulisem keskkonnategur ning mõjutab kõiki eelmainitud mehhanisme.

Mikroorganismide paljunemine toiduainetes sõltub temperatuurist, ajast, niiskusest, keskkonna pH-st, hapniku juurdepääsust toidule, toidu keemilisest koostisest, mikroorganismide arvukusest tooraines ja paljudest teistest teguritest, millest kõige olulisemad klassifitseeritakse kahte kategooriasse: seesmised ja välised (Hajmeer ja Cliver, 2002). Selleks, et vältida või maksimaalselt vähendada toidus patogeensete ja/või riknemist põhjustavate mikroorganismide kasvu, tuleb toidu seesmiseid ja väliseid tegureid ning nende toimet mikroorganismidele hästi tunda.

**Seesmised tegurid** on toidule iseloomulikud omadused nagu pH, niiskuse sisaldus, toitaineline koostis, mikrofloora, mikroobide kasvu pidurdavad toidu koostisosad, bioloogiline struktuur ja redokspotentsiaal (oksüdatsiooni vähendamispotentsiaal).

**Välised tegurid** on pigem tootmiskeskkonnast tulenevad omadused ja tegurid, mis mõjutavad mikroorganismide kasvu. Erinevalt seesmistest teguritest saab väliseid tegureid kergesti muuta. Välisteks teguriteks on nt temperatuur (tootmisprotsessis, ladustamisel, transpordil ja müügiotsessis) ja suhteline niiskus (FSAI, 2017). Mikroobide kasv sõltub nii füüsikalistest (temperatuur, kiirgus, pH, gaasiline keskkond, veetustumine, osmootne rõhk) kui ka keemilistest mõjuteguritest (mikroobide toitumisvõimalused, toidus kasutatavad lisaained

jms.). Mikroobide vastupidavus mitmesugustele füüsikalistele teguritele on erinev. Nii on igale mikroobiliigile iseloomulikud vaid temale omased optimaalsed kasvutingimused. Samal ajal tuleb arvestada mikroobide suurt kohanemisvõimet erisuguste tingimustega, mis raskendab omakorda kontrolli nende kasvu üle.

Tabelis 1 tutvustatakse lähemalt keskkonnategureid, mis mõjutavad mikroobide kasvu toidus kõige enam (Hajmeer ja Cliver, 2002).

**Tabel 1.** Toidu seesmistest ja välistest teguritest\* näiteid (Jay jt., 2005)

Seesmistest tegurid	Välised tegurid
pH	Temperatuur (töötlemisel, säilitamisel, transportimisel ja müümisel)**
Vee aktiivsus ( $a_w$ )**	Pakendamine**
Redokspotentsiaal ( $E_h$ )	Gaasiline koostis
Loomulikud looduslikud barjäärid	Suhteline niiskus
Toitaineline koostis	Toidu töötlemisviis
Antimikroobsed ühendid	Head tootmis- ja hügieenitavad
Mikrofloora	Ladustamine ning levitamine
Koostisosade mikrobioloogiline kvaliteet	Tarbimisviis
Toidu koostis	HACCP menetlused
Toidu koostis ja struktuur	Varasemad tootekohased andmed

\*toidus mikroorganismide kasvu mõjutavad tegurid

\*\*enamike toidu tootjate jaoks on kõige olulisemateks toidus mikroorganismide kasvu mõjutavateks teguriteks pH, vee aktiivsus, säilitamistemperatuur ja toidu pakendamisviis

#### 4.1. Temperatuur

Temperatuuril on mikroorganismide elutegevuses väga suur tähtsus. Enamik baktereid ja seeni kasvavad hästi toatemperatuuril (+20 °C). Temperatuuril alla +8 °C ja üle +65 °C (Hajmeer ja Cliver, 2002) enamike mikroorganismide paljunemine küll katkeb, kuid nad ei hävi täielikult. Temperatuuri vajaduse ja taluvuse järgi jaotatakse mikroorganismid nelja kategooriasse: termofiilid, mesofiilid, psührofiilid ja psührotroofid. Termofiilid vajavad kasvuks kõrgeid temperatuure, mesofiilid kasvavad hästi inimese kehatemperatuurile sarnasel temperatuuril. Psührofiilid vajavad kasvuks madalaid temperatuure ning sarnaselt psührofiilidele kasvavad ka psührotroofid külmkapi temperatuuridel, kuid aeglasemini võrreldes nende optimaalse kasvutemperatuuriga.

Järgnevalt on esitatud mikroorganismide klassifitseerimine vastavalt nende kasvutemperatuuridele.

**Tabel 2.** Mikroorganismide grupeerimine vastavalt kasvutemperatuuridele

Kategooria	Temperatuurivahemik (°C)	Optimaalne temperatuur (°C)	Näiteid mikroobidest
Termofiilid	50-75	65	<i>Bacillus</i> spp., <i>Clostridium</i> spp.
Mesofiilid	10-45	37	<i>Escherichia coli</i> , pärmid
Psührofiilid	0-15	8	<i>Pseudomonas</i> spp. <i>Salmonella typhimurium</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Bacillus</i> spp.
Psührotroofid	0-35	21	<i>Listeria</i> spp., <i>Yersinia</i> spp., <i>Pseudomonas</i> , <i>Enterococcus</i> , pärmid

Ennetamaks enamike toidupatogeenide kasvu ning vältimaks toidu riknemist tuleb toitu säilitada nn "ohutsoonist" (temperatuurid +4 °C kuni +60 °C) väljaspool (Hajmeer ja Cliver, 2002). Ohutsooni on erinevad kirjanduse allikad käsitlenud erinevalt, kuid põhimõte on selles, et ohutsooni jääv temperatuurivahemik võimaldab mikroorganismide kasvu. Enamik patogeene kuulub mesofiilide ja psührotroofide kategooriasse. Suhteliselt madalatel temperatuuridel on võimelised kasvama nt *Salmonella typhimurium* (+6,2 °C), *Staphylococcus aureus* (+6,7 °C), *Bacillus* spp. (+7,0 °C), *Vibrio parahaemolyticus* (+5,0 °C) ning mitmed toiduainete riknemist põhjustava mikrofloora esindajad (Jay, 2000b). Eeltoodust tingituna on esitatud ka väga konservatiivne ohutsooni temperatuurivahemik +4 °C kuni +60 °C (Hajmeer ja Cliver, 2002). Siiski, enamike bakteriaalsete mikroorganismide kasv on võimalik vaid temperatuuridel +8 °C kuni +60 °C.

Psührofiilsed ja psührotroofsed mikroorganismid põhjustavad madalatel temperatuuridel säilitatavate toiduainete riknemist. Psührotroofsetest mikroorganismid, mida sagedamini toidust leitakse, kuuluvad enamik perekondadesse *Pseudomonas* ja *Enterococcus*. Nad kasvavad hästi külmkapi temperatuuridel ning põhjustavad liha, kala, munade ning teiste madalatel temperatuuridel säilitatavate toitude riknemist. Madalatel temperatuuridele kasvavad hästi ka mõned hallitusseened nagu *Aspergillus*, *Cladosporium* ja *Thamnidium*, mis võivad kasvada nii munades, lihas kui ka puuviljades.

Mõnede mikroorganismide elutegevuseks sobilik temperatuur jääb vahemikku +50 °C kuni +75 °C. Selliseid mikroobe nimetatakse soojalembesteks ehk termofiilseteks. Kõige olulisemad termofiilsed mikroorganismid kuuluvad perekondadesse *Bacillus* ja *Clostridium*. Kuigi vaid vähesed antud perekondadesse kuuluvad bakteritüved on termofiilid, omavad nad siiski väga olulist tähtsust konservtoidu tootjatele, sest termofiilsed bakteriliigid võivad põhjustada konservtoodete riknemist (Jay, 2000a). On ka mikroorganisme, kes on võimelised kasvama nii vahemikus 0 °C kuni +30 °C või isegi sellest väljaspool, nt *Enterococcus faecalis*.

Teatud bakterite liigid moodustavad eoseid ehk püsirakke, mis on kõrgetele temperatuuridele väga vastupidavad. Näiteks võib tuua *Clostridium botulinum*'i eosed, mis hävinevad temperatuuril +120 °C 10 kuni 20 minuti jooksul.

Mikroorganismide hävitamisel on oluline eelkõige temperatuuri ja aja kombinatsioon. Näiteks *Escherichia coli* hävib temperatuuril +65 °C ühe minuti jooksul, temperatuuril +75 °C aga juba kahe kuni kolme sekundiga. Temperatuuri füsioloogiline toime mikroobide kasvule on suurel määral seotud temperatuuri otsese mõjuga mikroobi ensümaatilise aparaadi aktiivsusele. Madalatel temperatuuridel ensümaatiline aktiivsus väheneb ja sellega kaasneb mikroobide kasvukiiruse langus. Madalatel temperatuuridel muutuvad aga sellise struktuuriga membraanid vahajaks ja kaotavad ainete läbilaskefunktsiooni, mistõttu ei ole rakkude paljunemine võimalik. Selle vältimiseks on neis tingimustes kasvavatel bakteritel membraanides suurem eelkõige küllastumata rasvhapete hulk. Membraansete erinevuste tõttu on prokarüootid (eeltuumsed

rakud) võimelised kasvama palju kõrgematel temperatuuridel kui eukarüoodid (organismid, kelle rakud on nn päristuumsed).

Temperatuuri, millel mikroobirakkude kasvukiirus on suurim, nimetatakse optimaalseks (vt tabel 3). Mikroobid saavad kasvada maksimum- ja miinimumtemperatuuri vahelises piirkonnas. Siinjuures oleks otstarbekas rõhutada, et ka külmalembeste mikroobide kasvu madalamaks temperatuuripiiriks on vee külmumistemperatuur, s.o puhtal veel 0 °C ja mereveel -2,5 °C. Kuigi madal temperatuur takistab mikroobide kasvu, ei pruugi see mikroobidele surmavalt toimida. Seda omadust on võimalik kasutada mikroobitüvede külmsäilitamisel. Nimelt lisatakse laboratooriumides mikroobide kasvukeskkonda vee külmumistemperatuuri alandavaid reaktiive, nagu glütserool (lõppkontsentratsioonis mitte alla 10%). Viimased takistavad rakus suurte jääkristallide moodustumist ja lubavad mikroobikultuure säilitada väga madalatel temperatuuridel (-80 °C või alla selle). Säilitamise temperatuuri mõju säilimisaja pikkusele illustreerib modelleerimise teel saadud tulemus, kus olid loodud tingimused külmalembese *Yersinia enterocolitica* kasvamiseks. Kui kalandustoote säilimisajaks jääs (0 °C) leiti 14 päeva, siis +2 °C juures oli säilimisaeg 10 päeva, +4 °C juures oli säilimisaeg 7 päeva ning +6 °C juures vaid 5 päeva (EFSA, 2015). Kuna tegemist on modelleerimise teel saadud tulemusega, siis ei ole seda võimalik üldistada kõikidele kalatoodetele.

Osa mikroobe on aga võimelised taluma kõrgeid temperatuure. Neid nimetatakse termoresistentseteks ja siia kuuluvad üldjuhul eoseid moodustavad liigid.

Patogeenide kasvu vältimiseks tuleb tagada toidu säilitamine võimalikult madalal temperatuuril, nt +4°C, või temperatuuril üle +63 °C (toidu kuumana säilitamine). Enamus toidumürgistust põhjustavatest bakteritest on mesofiilid ning paljunevad seetõttu toatemperatuuril säilitavas toidus, küll aga ei kasva nad külmkapi temperatuuridel säilitatavas toidus (+2 °C kuni +6 °C).

Sügavkülmutatud toidus (-18 °C või madalamad temperatuurid) mikroorganismid ei paljune, ehkki võivad säilitada eluvõime ja hakata toidu sulatamisel paljunema. Toidupatogeenidest, kes on võimelised madalatel temperatuuridel kasvama, on tuntumad *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica*, *Aeromonas hydrophila* ja *Bacillus cereus*’e teatud tüved.

Osa baktereid (nt *Bacillus* spp. piimas ja piimatoodetes) on võimelised moodustama eoseid, mis kaitsevad neid ebasoodsate keskkonnatingimuste eest nagu kõrge temperatuur, kuivamine ja desinfitseerimine. Eosed on puhke seisundis ning nad ei paljune. Kui uuesti tekivad soodsad kasvutingimused, tekib eosest vegetatiivne rakk, mis seejärel hakkab soodsates tingimustes kasvama ja paljunema. Kui viimasel juhul on tegemist nt *Clostridium perfringens*’ga, siis lisandub bakterite arvukuse tõusule toidus ka toksiinide tootmine, mis põhjustab toidu saastumise ning toksiinidega saastunud toidu tarbijate haigestumise.

Toidu säilitamistemperatuuri valikul tuleb mõningatel juhtudel arvestada ka toidu kvaliteediga. Kuigi enamasti soovitakse toitu säilitada külmkapi temperatuuril, siis mõningate toitude puhul seda siiski teha ei tasu, nt banaanide säilitamiseks sobib paremini +13 °C kuni +17 °C ning enamike töötlemata aedviljade säilitamiseks on parim +10 °C. Kuigi temperatuur on toiduainete säilitamisel kõige olulisem parameeter, tuleb oluliseks pidada ka suhtelist õhuniiskust ning gaaside, nt CO<sub>2</sub> ja O<sub>3</sub>, olemasolu või puudumist.



**Tabel 3.** Patogeenide kasvu mõjutavad tegurid\*

Bakter	Minimaalne kasvutemperatuur, °C	Optimaalne kasvutemperatuur, °C	pH vahemik kasvuks	Minimaalne veeaktiivsus kasvuks
<i>Salmonella</i> ssp	5	35-43	4,5-9,0	0,94
VTEC	6-7	35-42	4,4-10	0,95
<i>L. monocytogenes</i>	-1	30-47	4,4-9,4	0,92
<i>Y. enterocolitica</i>	-2	28-29	4,2-10	0,96

\*EFSA 2014

## 4.2. Hapnikutarve

Üks mikroobide kasvu oluliselt mõjutav keskkonnategur on hapnik. Molekulaarne hapnik on hädavajalik ühede mikroobide elutegevuseks, kuid toimib mürgise gaasina teistele mikroobidele. Hapnik on toksiline neile mikroobidele, kes ei suuda elimineerida hapnikust moodustuvaid toksilisi hapnikuvorme. Toksiliste hapnikuvormide neutraliseerimiseks funktsioneerivad mikroobirakkudes mitmesugused ensüümid, nt katalaas, peroksidaas jt.

Vastavalt sellele, kuidas bakterid reageerivad hapnikule, jaotatakse mikroobid rühmadesse:

- aeroobid – mikroorganismid, kes vajavad elutegevuseks hapnikku;
- fakultatiivsed anaeroobid – siia kuuluvad mikroorganismid kasvavad ka hapniku puudusel, lülitades ümber kas käärimisele või anaeroobsele hingamisele. Parim kasv on siiski aeroobsetes tingimustes;
- anaeroobid – kasvavad ainult hapnikuvabas keskkonnas;
- aerotolerantsed anaeroobid – kasvavad eelistatult anaeroobsetes tingimustes ja hapnik ei avalda neile pärssivat toimet;
- mikroaerofiilid – on aeroobid, kuid kasvavad madalamatel hapnikukontsentratsioonidel (2-10%), kui see on õhus (20%).

Eeltooduga saab arvestada toidu säilimisaegade planeerimisel. Toidu säilimisaja planeerimisel, kus eesmärgiks on võimalikult pikad toidu säilimisajad, on vajalik, et tootjad oleksid teadlikud nende toodete riknemist põhjustavatest mikroobide liikidest. Teades konkreetsete toodete mikrobioloogilist tausta, on võimalik toitu pakendada viisil, mis pärsib mikroorganismide kasvu. Kui toidus domineerivad anaeroobid, siis oleks mõttekas kasutada aeroobset pakendamiskeskkonda. Kui toidus domineerivad aeroobid, siis oleks mõttekas toit pakendada hapnikuvabasse keskkonda, nt vaakumpakendisse. Toidus esinevate fakultatiivsete anaeroobide kasvu pidurdamiseks on mõttekas kasutada gaasikeskkonda pakendamist, mis võib pikendada toidu säilimist mõne päeva kuni mitme nädala võrra.

## 4.3. pH

pH-l on logaritmiline skaala, mis tähendab, et selle muutumine ühe ühiku võrra tähendab kümme korda happelisemat või vähem happelisemat keskkonda ehk pH 6 on kümme korda happelisem kui pH 7. Tuleb teada, et pH 7 on neutraalne, pH vähem kui 7 on happeline ning pH suurem kui 7 on leeliseline keskkond. Mikroorganismide arenemisele avaldab keskkonna reaktsioon suurt mõju. Tugevalt happelises keskkonnas (pH alla 4,0) on enamiku mikroorganismide areng praktiliselt võimatu. Happelist keskkonda taluvad aga piim- ja äädikhappebakterid ning pärm- ja hallitusseened. Enamik mikroobe kasvab hästi keskkonnas pH 5,5–8,0, kuid esineb ka ekstreemsetes tingimustes, s.o väga happelises (pH 1–5,5) ja väga aluselises (pH 8,5–11,5) keskkonnas kasvavaid mikroobe. Neid nimetatakse vastavalt neutrofiilideks, atsidoofiilideks ja alkalifiiilideks. Õnneks ekstreemsetes tingimustes kasvavad mikroorganismid põhjustavad toiduainete riknemist vaid harvadel juhtudel. Enamik baktereid on neutrofiilid, samal ajal kui mikroseed eelistavad kergelt happelisi tingimusi (pH 4–6).



Optimaalne kasvu pH kajastab rakke ümbritseva keskkonna pH-d. Kuigi üldjuhul kasvavad mikroobid küllalt suures pH vahemikus (pH 1,5 kuni pH 11,0), on nende kasv erinevatel pH väärtustel küllaltki erinev. Bakterid kasvavad vahemikus pH 4,4 kuni pH 9,0. Pärmid ja hallitused kasvavad paremini happelises keskkonnas (pH vahemikus 1,5 kuni 8,5 pärmidel ning pH 1,5 kuni pH 11,0 hallitustel, Hajmeer ja Cliver, 2002). Viimasest tingituna võib järeldada, et pärmid ja hallitused põhjustavad tugevalt happeliste toitude (nt tomatid ja tsitrusviljad) riknemise ning bakterid eelkõige neutraalsele pH-le lähedaste toitude (nt liha ja köögiviljad) riknemise. Väga oluliseks pH väärtuseks toidu ohutuse seisukohalt on pH 4,5, millest madalamate pH-de juures ei ole *Clostridium botulinum* enam võimeline kasvama (Hajmeer ja Cliver, 2002).

Järsud pH kõikumised mõjuvad mikroobidele surmavalt, lõhkudes ära plasmamembraanid või pärssides raku ensümaatilisi reaktsioone. Bakter sureb, kui rakusisene pH langeb alla pH 5. Vaatamata sellele, et pH keskkond kõigub suurtes piirides, on rakusisene pH üsna stabiilne ja lähedane neutraalsele. Selle eest vastutab tsütoplasma membraan, mis on suhteliselt läbimatu prootonitele ja nende ülejääk paisatakse rakust välja. Mikroobid peavad tihti kohanema väliskeskkonna muutustega. Nad muudavad ka ise oma ainevahetus produktidega keskkonna pH-d. Kuna enamik toiduainetest on nõrgalt happelised või neutraalsed ( $\text{pH} \leq 7$ ), on mikroorganismide areng neis suhteliselt soodne. Toiduainete marineerimine ja hapendamine pidurdab enamiku mikroorganismide (eriti bakterite) kasvu. Tugevaim konserveeriv toime on äädik- ja piimhappel.

Tabelis 4 on esitatud mõnede mikroorganismide pH miinimumid ja maksimumid juhul, kui teised kasvutingimused on optimaalsed (Jay, 2000a; Roasto jt., 2011).

**Tabel 4.** Mõnede mikroorganismide kasvu pH miinimumid ja maksimumid

Mikroorganism	pH miinimum	pH maksimum
<i>Pseudomonas</i> spp.	5,6	8,0
<i>Clostridium perfringens</i>	5,5	8,5
<i>Bacillus cereus</i>	5,0	8,8
<i>Vibrio cholerae</i>	5,0	9,6
<i>Clostridium botulinum</i> tüüp E	5,0	9,0
<i>Shigella sonnei</i>	4,9	9,3
<i>Campylobacter jejuni/coli</i>	4,9	9,0
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	4,8	11,0
<i>Bacillus subtilis</i>	4,5	9,0
<i>Clostridium botulinum</i> tüüp A ja B	4,5	9,0
<i>Escherichia coli</i>	4,4	9,0
<i>Proteus vulgaris</i>	4,4	9,2
<i>Listeria monocytogenes</i>	4,4	9,4
<i>Yersinia enterocolitica</i>	4,2	9,6
<i>Staphylococcus aureus</i>	4,0	10,0
<i>Salmonella</i>	3,8	9,5
<i>Lactobacillus</i> spp.	3,4	7,2
<i>Saccharomyces</i> spp.	2,1	9,0
<i>Aspergillus flavus</i>	2,0	11,0

Tabelis 5 on toodud mõnede toitude pH väärtused, mida saab seostada eelnevas tabelis esitatud mikroorganismide kasvu miinimum ja maksimum pH-ga (Jay, 2000a; Roasto jt., 2011).

**Tabel 5.** Toitude ligikaudsed pH väärtused

<b>Aed- ja juurvili</b>	<b>pH</b>
Aeduba	6,0-5,0
Spargel	5,8-5,4
Brokoli	6,0-5,2
Kapsas	5,4-5,2
Porgand	5,8-5,2
Hernes	6,5-5,8
Kartul	6,0-5,4
Kõrvits	5,5-4,8
Spinat	5,8-4,8
Konserveeritud köögivili	6,5-5,4
Tomat	4,5-4,0
<b>Puuviljad, marjad</b>	<b>pH</b>
Õun	3,9-3,1
Banaan	5,1-4,5
Mustikas	3,4-3,2
Kirss	4,0-3,2
Viinamari	4,0-3,0
Greip	3,4-2,9
Sidrun	2,6-2,2
Roheline sidrun	2,4-2,3
Sidruni mahl	2,2-2,0
Apelsin	4,0-3,3
Virsik	4,2-3,3
Maasikas	3,9-3,0
Muskusmelon	6,5-6,2
<b>Muud toidud</b>	<b>pH</b>
Söögisooda	≥8,0
Puhas joogivesi	7,0-7,0
Värske muna	7,8-7,0
Munavalge	7,6-9,0
Krevetid	7,0-6,8
Merekarbid ning austrid	6,5-4,8
Piim	6,6-6,3
Või	6,4-6,1
Kanakints	6,7-6,4
Enamik kalaliikidest (värske kala)	6,8-6,6
Lõhe, tursk	6,5-6,1
Tuunikala	6,1-5,2
Maksavorst	6,4-5,9
Sealiha	6,2-5,6
Veiseliha	6,0-5,4
Veise hakkliha	6,2-5,1
Sink	6,1-5,9
Värske linnuliha	6,2-5,8
Salaami vorst	5,4-4,5
Leib	5,8-5,3
Sojakaste	4,8-4,6
Äädikas	2,5-2,0

#### 4.3.1. Hapendamine

Hapendamiseks (samuti kääritamine, fermenteerimine) nimetatakse toidu töötlemise protsessi, mille käigus piimhappebakterite elutegevuse tulemusena tooraines sisalduv suhkur kääritatakse piimhappeks, tänu millele toote pH langeb, mis omakorda hoiab toodet riknemise eest.

#### 4.3.2. Marineerimine

Enamik mikroobe kasvab hästi keskkonnas pH 5,5 kuni pH 8,0 (neutrofiilid), kuid esineb ka nn ekstremiste, s.o väga happelises (pH 1,0 kuni pH 5,5) ja väga aluselises (pH 8,5 kuni pH 11,5) keskkonnas kasvavaid mikroobe. Enamik baktereid on neutrofiilid, samal ajal kui mikroseed eelistavad kergelt happelisi tingimusi (pH 4 kuni pH 6). Eelnevalt sai mainitud, et bakter sureb, kui rakusisene pH langeb alla 5. Marineerimise säilitav toime põhineb sellel, et enamik mikroorganisme, eriti roiskumist põhjustavad mikroobid, ei arene happelises keskkonnas. Laialdaselt kasutatavaks konserveerivaks ühendiks on äädikhape, mille sisaldus erinevates marinaadides kõigub 0,6% kuni 1,2%-ni. Peale happe sisaldab marinaad soola, suhkrut, mitmesuguseid maitsetaimi ja vürtse. Marinaadi lisatav keedusool soodustab marineeritavate toiduainete säilimist ja selle mõjul püsib paremini ka toiduainete loomulik värvus. Suhkrut lisatakse äädika teravalt hapu maitse pehmemdamiseks. Vürtsid ja maitseained annavad marineeritavatele toiduainetele aroomi ja maitse, kuid oluline on ka mikroorganismide arengu pärssimine, mis on tingitud neis leiduvatest eeterlikest õlidest. Marineeritud toodete säilimise pikendamiseks tuleb happe konserveerivat toimet täiendada toodete pastöriseerimisega hermeetilises taaras.

#### 4.4. Redokspotentsiaal

Redokspotentsiaal ehk oksüdatsioonipotentsiaal on keemilise elemendi või ühendi tendents liita elektrone ja seetõttu redutseeruda. Igal elemendil/ühendil on temale omane redokspotentsiaal, kusjuures mida positiivsem ehk suurem on elemendi/ühendi redokspotentsiaal, seda kõrgem on tema afiinsus elektronide suhtes ehk võime redutseeruda. Redokspotentsiaali mõõdetakse tavaliselt millivoltides. Redokspotentsiaali standardväärtuseks loetakse kokkuleppeliselt standardvesinikelektroodi väärtust, mis võrdsustatakse väärtusega 0,00 mV. Seetõttu mingi ühendi redokspotentsiaal on suhteline väärtus – võrdlus standardvesinikelektroodiga. Nagu eelnevalt mainitud, näitab toidu redokspotentsiaal ( $E_h$ ), kas toidul on tendents omandada elektrone ehk saada redutseeritud, või loovutada elektrone ehk saada oksüdeeritud. Toidu redokspotentsiaal sõltub hapniku kontsentratsioonist keskkonnas ja selle toidule ligipääsemisest, näiteks toidu tihedusest, sest see mõjutab otseselt hapniku läbimisvõimet. Toidu pH langusel ühe ühiku võrra tõuseb redokspotentsiaal +58 mV võrra.

Tabelis 6 ja 7 on esitatud mõnede mikroorganismide ning toitide redokspotentsiaali määrad (Roasto jt., 2011).

**Tabel 6.** Mikroorganismide redokspotentsiaal

Mikroorganism	Redokspotentsiaal, mV	Seos hapnikuga
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	+500 kuni +100	obligatoorne aeroob
<i>Staphylococcus aureus</i>	+200 kuni –230	fakultatiivne anaeroob
<i>Proteus vulgaris</i>	+150 kuni –600	fakultatiivne anaeroob
<i>Clostridium paraputrificum</i>	–30 kuni –500	obligatoorne anaeroob
<i>Clostridium perfringens</i>	+216 kuni –230	aerotolerantne anaeroob

**Tabel 7.** Mõnede toitide redokspotentsiaal

Toit	Redokspotentsiaal, mV
Munad	+500
Greibimahl	+400
Puuviljamahlad	+300 kuni +400
Konserveeritud toidud	–130 kuni –550
Toorpiim	+200
Hakkliha	+200
Toores tükiliha (seest)	–200
Konserveeritud liha	–150

#### 4.5. Vee aktiivsus

Et mikroorganismid võiksid omastada toitaineid, peab keskkond sisaldama teatud hulga niiskust. Mikroorganismid ammutavad vett ümbritsevast keskkonnast. Vee olemasolu ei tähenda veel seda, et mikroorganismid saavad seda vabalt kasutada. Vesi võib olla seotud veeslahustunud ühenditega, nagu soolad (NaCl, KCl), suhkrud, mitmealuselised alkoholid, happed ja alused, või on toimunud vee imendumine pindadesse. Toiduainetes olev vesi on osaliselt seotud toidu koostiscomponentidega, valgu, tärklise, soola, suhkruga jne. Seotud vett ei saa mikroobid kasutada, sest neile on kättesaadav vaid vaba vesi. Näiteks, kui suhkru kontsentratsioon toidus on tõstetud teatud tasemeni, seotakse kogu toidus olev vesi suhkruga. See omakorda piirab vee vähesuse tõttu mikroorganismide kasvu ning vee aktiivsus väheneb. Mida madalam on vee aktiivsus, seda kauem toode säilib. Lahustuvate ainete lisamine vähendab vee kontsentratsiooni ja lahustuv aine muudab teatud määral vee struktuuri. Vee aktiivsus ( $a_w$ ) on suhtarv, mis leitakse, jagades toidu kohal oleva veeauru osarõhu destilleeritud veeauru rõhuga samal temperatuuril. Destilleeritud vee aktiivsus  $a_w$  on 1,00 ja veemolekule üldse mitterisaldava toidu vee aktiivsus  $a_w$  on 0,00. Toidu vee aktiivsus ei ole samane nähtus toidu niiskusesisaldusega. Paljudel toitudel võib olla sarnane niiskusesisaldus, kuid täiesti erinev vee aktiivsus. Keskmise niiskusesisaldusega toodetes on vee aktiivsus 0,6 või alla selle. Toiduainete pikemaajaliseks säilitamiseks peaks vee aktiivsus olema vahemikus 0,65–0,75.

Tabelis 8 ja 9 on esitatud mõnede mikroorganismide ja toitude vee aktiivsuse näitajad (Jay, 2000a; Scott jt., 2001).

**Tabel 8.** Mõnede mikroobirühmade ja toidupatogeenide kasvu minimaalsed vee aktiivsuse väärtused

Grupp	Minimaalne vee aktiivsus ( $a_w$ )
Enamik riknemist põhjustavatest bakteritest	0,90
Enamik riknemist põhjustavatest pärmidest	0,88
Enamik riknemist põhjustavatest hallitustest	0,80
<b>Mikroorganismide liigid</b>	
<i>Campylobacter jejuni</i>	0,98
<i>Campylobacter coli</i>	
<i>Clostridium botulinum</i> tüüp E	0,97
<i>Vibrio cholerae</i>	0,97
<i>Pseudomonas</i> spp.	0,97
<i>Shigella sonnei</i>	0,96
<i>Vibrio vulnificus</i>	0,96
<i>Escherichia coli</i>	0,95
<i>Bacillus subtilis</i>	0,95
<i>Salmonella</i>	0,94
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	0,94
<i>Clostridium botulinum</i> tüüp A ja B	0,94
<i>Bacillus cereus</i>	0,93
<i>Clostridium perfringens</i>	0,93
<i>Listeria monocytogenes</i>	0,92
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,86
<i>Aspergillus flavus</i>	0,78
<i>Aspergillus candidus</i>	0,75
<i>Xeromyces bisporus</i>	0,61

Üldiselt kasvavad aeroobsed mikroorganismid madalama vee aktiivsuse juures paremini võrreldes anaeroobidega. Vee aktiivsuse langemisel katkeb kõigepealt bakterite areng, siis enamiku pärmseente ja alles seejärel hallitusseente areng.

**Tabel 9.** Mõnede toiduainete vee aktiivsuse väärtused

Toit	Vee aktiivsus ( $a_w$ )
Värske piim	$\geq 0,98$
Värske kala	0,99
Toores liha k.a linnuliha	0,98
Värsked aedviljad	$\geq 0,98$
Maksavorst	0,98–0,96
Toores peekon	0,96–0,82
Salaami tüüpi vorstid	0,94–0,72
Kõvad juustud	0,91–0,80
Riis, oad, herned	0,87–0,80
Marmelaad	0,80–0,75
Tugevalt soolatud kala	0,80–0,70
Kuivatatud liha	$\geq 0,65$
Kuivatatud puuviljad, moosid ning jahud	0,85–0,60
Šokolaad, mesi	0,61–0,42
Kuivatatud vürtsid	0,5–0,2
Munapulber, piimapulber	0,40–0,25
Sojakaste	0,70–0,80
Punase karri pasta	0,83
Kohvipulber, lahustuva kohvi pulber	$\leq 0,20$

#### 4.6. Suitsutamine

Peamiselt kasutatakse suitsu selle konserveeriva toime tõttu. Suits sisaldab üle 200 ühendi, millest peamised on fenoolid jt aromaatsed ühendid, orgaanilised happed, orgaanilised alused, süsivesinikud, süsivesikud. Suitsutatud toodete parem säilimine on tingitud bakteritsiidse toimega komponentide sisaldusest ehk kõrge keemistemperatuuriga hapete ja fenoolide sisaldusest. Toote konserveerimise seisukohalt on tähtis ka selle kuivatamine, samuti keedusoola kontsentratsiooni suurendamine, toidu niiskusesisalduse vähenemine ning kuumsuitsutamisel ka kõrgete temperatuuride mõju. Bakterite ellujäämine sõltub suitsu temperatuurist ja tihedusest ning toote niiskusesisaldusest, kusjuures õhu niiskusesisaldusel on väike mõju. Hõreda suitsuga suitsutamine  $+30\text{ }^{\circ}\text{C}$  juures ei avalda märgatavat mõju toote bakteriaalse saastatuse vähendamisele, kuid tiheda suitsuga suitsutamine madalal temperatuuril ( $+13\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) vähendab bakterite arvukust tootes. Suitsutamisel  $+60\text{ }^{\circ}\text{C}$  juures vähendavad nii hõre kui ka tihe suits bakterite üldarvu kuni 0,01%-ni (Soidla jt., 2004). Kõige tugevam bakterite vastane mõju on fenoolidel ja karboksüülhapetel, mis kahjustavad enamikku eoseid mittemoodustavaid baktereid. Suitsu mõju suhtes on palju resistentsemad hallitusseened, eriti soodsa õhutemperatuuri ja niiskusesisalduse tingimustes. Suitsu bakteritsiidne mõju avaldub eelkõige toote välispinnal umbes 5 mm ulatuses, mis on enamasti piisav selleks, et ära hoida väliskeskkonnast pärit bakterite ja hallitusseentega saastumist. Pärsitud on eelkõige gram-negatiivsete bakterite, mikrokokkide, stafülokokkide ning pärm- ja hallitusseente areng. Vähetundlikud on bakterite eosed, pediokokid, streptokokid, *Leuconostoc* spp. ja laktobatsillid. Toidu suitsutamisel tuleb lisaks mikrobioloogilise ohu minimeerimisega silmas pidada ka võimalike kantserogeensete ühendite teket. Puidu mittetäieliku põlemise tagajärjel võib moodustuda sadu eri liike polütsüklilisi aromaatsed süsivesinikke (PAH), mis ladestuvad suitsutamise käigus suitsutatava toote pinnale. Kuna PAHd omavad inimorganismile kantserogeenset toimet, on väga oluline jälgida ja kontrollida suitsutamise seotud protsesse. Toidu ohutu tarbimise eesmärgil on toidus leiduvatele PAHdele kehtestatud piirnormid.

#### 4.7. Lisaained

„Toidu lisaaine – aine, mida olenemata selle toiteväärtusest ei kasutata tavaliselt iseseisva toiduna või toidule iseloomuliku koostisainena ja mille tahtlik tehnoloogilisel eesmärgil lisamine toidule selle tootmisel, töötlemisel, valmistamisel, käitlemisel, pakendamisel, transpordil või ladustamisel viib või võib põhjendatud oletusel viia selleni, et lisaaine ise või tema kõrvalsaadused muutuvad otseselt või kaudselt selliste toitude koostisosaks“.

Tänapäeva toiduainete tehnoloogia on enamasti mõeldamatu lisaaineteta, sest lisaainete kasutamine võimaldab pakkuda tarbijatele suuremat tootevalikut. Enamasti kasutatakse lisaaineid toidu omaduste parandamiseks, toiteväärtuse säilitamiseks, kuid ka toiduohutuse tagamiseks. Lisaainete kasutamise vajadus sõltub toidu tootmisviisist, kasutatavatest koostisosadest, toidu väljanägemisest, pakendamisviisist, vajadusest kaitsta toitu kahjulike bakterite eest, nõutavast säilimisajast jms.

Lisaaineid võib päritolust tulenevalt tinglikult jagada looduslikeks, loodusidentseteks ning sünteetilisteks (TAI, 2017).

Looduslikud lisaained on toidust eraldatud ained, näiteks tardaine pektiin (E 440) puuviljadest, toiduvärvid peedipunane (E 162) peedist ja paprikaekstrakt (E 160c) paprikast.

Loodusidentset ained on sünteesi teel saadud ained, millel leidub analoog ka looduses, näiteks antioksidant askorbiinhape (E 300) või säilitusained sorbiinhape (E 200) ja bensoehape (E 210). Looduslike ja loodusidentsete lisaainete vahe seisneb selles, et looduslikud lisaained eraldatakse looduslikust materjalist ning loodusidentset lisaained saadakse sünteesi teel.

Sünteesi teel saadud ained, millel looduses analoogi ei ole, näiteks asovärvid.

Lisaainetel on E number, mis tähendab, et lisaaine on läbinud ohutuse hinnangud ning Euroopa Liidus heaks kiidetud. Toidu lisaained kuuluvad toote koostisesse ja need tuleb esitada toidu pakendil oleval koostisosade loetelus. Lisaaine nimi või E number tuleb esitada koos rühmanimetusega nt. säilitusaine sorbiinhape või säilitusaine E 200.

Vaatamata lisaainete kasutamise rangele normeerimisele võib siiski esineda ka oht, et neid on toodetes lubatust suuremates kogustes nt valesti koostatud retseptidest tingituna. Lisaainete ja ka muude ainete ohtudest rääkides on oluline aine kogus. Lisaaineid lubatakse toitu lisada inimese tervisele ohutuks hinnatud kogustes. Selleks määratletakse loomkatsete tulemusena kõigepealt NOAEL kogus, mis on aine kontsentratsioon, mille korral ei ilmne täheldatavat kahjulikku toimet sihtorganismile. NOAEL-i kogusest tuletatakse inimese tervisele ohutu kogus ADI, mis on NOAEL-i kogusest vähemalt 100 korda madalam. Lisaainetele määratud ADI väärtus näitab aine kogust, mida võib ööpäevas kogu eluea jooksul ohutult tarbida, arvestatuna kehakaalu kilogrammi kohta (TAI, 2017).

Toiduainetetööstuses kasutatavad tuntumad lisaainete rühmad on:

- 1) säilitusained;
- 2) toiduvärvid;
- 3) sünteetilised magusained, emulgaatorid, stabilisaatorid ja paksendajad;
- 4) antioksidandid;
- 5) teised lisaained (lõhna- ja maitsetugevdajad, happesuse regulaatorid, paakumisvastased ained, vahutamistvastased ained, mahuained, emulgeerivad soolad, tardained, vahustusained jne).

#### Säilitusained

Näitena võiks tuua säilitusained naatriumnitriti (E 250) ja naatriumnitraadi (E 251). Lihasaaduste kvaliteedi stabiilsus ja mikrobioloogiline ohutus tagatakse põhiliselt nitritsoola lisamisega, kuid nitriti bakteritsiidset toimet ei tohiks üle hinnata. Oluline on nitritsoolade kasutamine eelkõige sellistes lihatoodetes, milles *Clostridium botulinum* ei saa kuumtöötlemisega inaktiveeritud, nagu toorvorstid ja teised vähese kuumtöötlemisega

lihatooted. Mõnedes lihatoodetes nitrit inaktiveeritakse sõltuvalt toote koostisest, näiteks suure rauasisaldusega toodetes tekib raua ja nitriti kompleks, mistõttu nitriti *C. botulinum*'i vastane toime verivorstides on väike. Mõnedel tingimustel võivad tekkida nitritite ja amiinide vaheliste reaktsioonide tulemusena kantserogeensed nitrosoamiinid. Juhul, kui lihasaadustele lisatakse valmistamise käigus fermentatsiooni esile kutsuvaid bakterikultuure, on nitrosoamiini sisaldus valmistootes reeglina väiksem.

Jookides sageli kasutatavad säilitusained on sorbiin- ja bensoehape ja nende soolad. Sorbiin- ja bensoehapet leidub looduslikult jõhvikates, pohlades ja pihlakamarjades. Oma heade antiseptiliste omaduste tõttu on üsna levinud säilitusained E 220 vääveldioksiid ( $\text{SO}_2$ ) ja sulfitid (E 221 - E 228), mida kasutakse laialdaselt näiteks kuivatatud puuviljade säilitamiseks, aga ka värskete lauaviinamarjade ja kooritud kartulite puhul. Mõned säilitusained võivad organismi ülitundlikkuse korral põhjustada tervisehäireid. Vääveldioksiid ja sulfitid on kantud allergiat põhjustada võivate ainete loetellu, seetõttu on nende ühendite märgistamine kohustuslik ka alkoholsete jookide, sh veinide puhul. Sulfitid ja vääveldioksiid takistavad hallitusseente, pärmide ja aeroobsete bakterite arengut, väiksem on nende mõju anaeroobsele mikrofloorale (Kiis jt., 2000).

#### 4.8. Kontrollitud keskkond ja gaasikeskkonda (MAP) pakendamine

Kontrollitud keskkonnas säilitamisel (nt puuviljade säilitamisel) muudetakse keskkonna koostist säilitamise ajal. Liha ja lihasaaduste puhul kasutatakse sageli gaasikeskkonda pakendamist, kus pakendis olevat keskkonda säilimise jooksul ei muudeta. MAP gaaside segu koosneb tavaliselt tüüpilistest õhus sisalduvatest gaasidest: süsinikdioksiidist ( $\text{CO}_2$ ), lämmastikust ( $\text{N}_2$ ) ja hapnikust ( $\text{O}_2$ ). Alternatiivina võib kasutada gaaside segus ka lämmastikoksiidi (NO), argooni (Ar) või vesinikku ( $\text{H}_2$ ). Koostada tuleb gaaside segu, mis on toidule sobiv. MAP tehnoloogias kasutatakse kõige sagedamini süsinikdioksiidi, mida ei talu enamik aeroobsetest mikroobidest ja hallitusseentest. Lämmastikku kasutatakse peamiselt hapniku asendamiseks, et vältida oksüdeerumist. Hapnikutase peab olema võimalikult madal hoidmaks ära aeroobide arengut ja oksüdatsiooni esinemist. Samas aitab hapnik säilitada liha punast värvust ja on vajalik puu- ja köögiviljade "hingamise" kindlustamiseks.

Mikroorganismide kasvu toidus mõjutavad eelnevalt kirjeldatule lisaks veel mitmed teised tegurid. Olulist mikroobide kasvu pidurdavat toimet võivad avaldada toiduainetes esinevad looduslikud ja toitu lisatavad antibakteriaalsed ühendid, mikroorganismide koosmõju k.a. konkurentsi efekt, toiduainete külmutamine, kuumutamine ja kuivatamine, erinevate konservantide (sorbiin-, bensoe-, propioon-, väävlishape jt), eeterlike õlide ja taimsete antibiootikumide (nt fütontsiidide) kasutamine, mebraanfiltratsioon, kõrgsurvepressi meetod (HPP, *High Pressure Processing*) ja pulseeriv elektriväli ning mõned teised tehnoloogiad, mille rakendamine aitab muuta toitu mikrobioloogiliselt ohutuks ja/või pikendada toidu säilimisaega.

#### 4.9. Füüsikaline/bioloogiline struktuur

Tegemist on toidule omase struktuuriga, mis säilitab toidu füüsilise terviklikkuse. Selliste struktuuride näiteks on pähkli-, muna- ning puu- ja juurviljade koored, looma nahk jne. Niikaua, kuni sellised looduslikud struktuurid on terviklikud, ei võimalda nad mikroorganismide poolset koloniseerimist ning pidurdavad seeläbi oluliselt toiduainete riknemist. Vigastatud koorega puu- ja juurviljad lähevad oluliselt kiiremini rikkema kui terve koorega viljad. Munad, mille väline koor ja membraanid on terved, mis on hoitud õige temperatuuri ja niiskuse juures, välistavad praktiliselt igasuguse mikrofloora sisenemise. Kala ja liha kattev nahk välistab liha saastumise ning seeläbi pidurdab oluliselt ka liha riknemist. Eelnimetatud looduslikke



struktuur-barjääre, mis välistavad või pidurdavad toiduainete riknemist, tuleks säilitada niikaua kui võimalik (Jay, 2000a).

Käesoleva peatüki kokkuvõttena on tabelis 10 esitatud toiduohutuse seisukohalt oluliste toidupatogeenide kasvu iseloomustavad omadused ning seonduvad toidud.

**Tabel 10.** Olulisemate toidupatogeenide kasvu iseloomustavad omadused (FSAI, 2017)

Patogeen	Temp (°C)	pH	Vee aktiivsus (a <sub>w</sub> )	Sool (%)	Gaasiline keskkond	Enamasti seonduvad toidud
	KV* Minimaalne (Optimaalne) Maksimaalne		KV Minimaalne	KV Maksimaalne	KV	
<i>Salmonella</i> spp.	5 (35-43) 47	3,8 (7-7,5) 9,5	0,94	4	Fakultatiivne	Munad, lihad, pastöriseerimata piimatooted, idandid, puu- ja köögiviljad, šokolaad, väikelaste kuivsegud, maitsetaimed, vürtsid
<i>Clostridium botulinum</i> (proteolüütiline)	10 (35-40) 42	<4,6 (7) 8	>0,94	10	Anaeroobne	Konservtooted, vaakumisse ning MAP-i pakendatud tooted kus hapniku sisaldus on madal
<i>Clostridium botulinum</i> (mitte-proteolüütiline)	3 (28-30) 35	<5,0 (7) 8	>0,97	5	Anaeroobne	
<i>Staphylococcus aureus</i>	10 (40-45) 48	4 (7-8) 9,6	0,83	10	Fakultatiivne	Munad, linnuliha, lihad, piimatooted, kondiitritooteid, salatid, võileivad jms.
<i>Campylobacter</i> spp.	32 (42-43) 45	4,9 (6,5-7,5) 9	>0,98	1,5	Mikroaeroofiilne	Linnuliha, pastöriseerimata piim ja piimatooted
<i>Yersinia enterocolitica</i>	-1,3 (25-37) 42	4,2 (7,2) 9,6	0,94	7	Fakultatiivne	Värske liha (eriti sealih), pastöriseerimata piim ja piimatooted
<i>Listeria monocytogenes</i>	-1,5 (30-37) 45	4,2 (7) 9,5	0,90	12	Fakultatiivne	Jahutatud valmistoidud
<i>Clostridium perfringens</i>	10 (43-47) 50	5,5 (7,2) 9	0,93	6	Anaeroobne	Küpsetatud lihad, lihakastmed, supid
STEC ja VTEC ( <i>E. coli</i> )	6,5 (30-40) 45	3,6 (6-7) 9	0,95	>6,5	Fakultatiivne	Liha k.a. linnuliha, pastöriseerimata piimatooted ning õunamahl, idandid, juurvilja salatid, puhastamata joogivesi
<i>Bacillus cereus</i>	4 (30-40) 55	4,3 (6-7) 9,3	0,93	7,5	Fakultatiivne	Kuumtöödeldud riis, maitseained, vastasündinute vedeljoogid
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	5 (37) 43	4,8 (7,8-8,6) 11	0,94	8	Fakultatiivne	Kala ja koorikloomad
<i>Cronobacter</i> spp.	5,5 (39,4) 45	3,89 (5-9) AP**	0,2	9,1	Fakultatiivne	Väikelaste kuivsegud, imikute toidud, jätkupiimasegud

\*KV, kasvu võimaldav

\*\*AP, andmed puuduvad



## 5. Jahutatud (valmis)toitude mikrobioloogilised ohud

Valmistoit on toit, mida tootja või valmistaja on kavandanud otsetarbimiseks ja mis ei vaja kuumtöötlemist või muul viisil töötlemist asjaomaste mikroorganismide tõhusaks kõrvaldamiseks või nende taseme vähendamiseks vastuvõetava piirini (määrus (EÜ) 2073/2005). Jahutatud valmistoitudes võivad kasvada, isegi temperatuuril alla +5 °C külmatalerantsed ehk psührotroofsed toidupatogeensed nagu *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus*, *Clostridium botulinum* ning *Yersinia enterocolitica*. Mainitud bakteriliikidest on eoseid võimelised moodustama *Bacillus cereus* ja *Clostridium botulinum*.

Kui kasvõi mõned neist bakteritest või nende eostest elavad üle toidu kuumtöötlemise või lisanduvad toitu töötlemisjärgselt, nt pakendamisel, võivad nad toidu jahesäilitamisel kasvada inimese tervisele ohtlike määradeni või toota inimese tervisele ohtlikke toksine.

### 5.1. *Listeria monocytogenes*’e ohjemeetmed

Kuigi listerioosi haigusjuhtumite arv EL-is ei ole kõrge, on haigustekitaja üks ohtlikumaid, sest invasiivse listerioosi korral on surmaga lõppevate haigusjuhtude määr väga kõrge, nt oli aastal 2017 EL-is listerioosi surmaga lõppevate haigusjuhtude määr koguni 13,8% (EFSA, 2018). Listerioos on eriti ohtlik riskirühmadesse kuuluvatele inimestele nagu rasedad, vastsündinud, eakad ning immuunpuudulikkusega inimesed. Riskirühmadesse mittekuuluvad inimesed võivad haigestuda mitte-invasiivsesse listerioosi, mis põhjustab mao-sooletrakti põletikke, mille tagajärjed ei ole tavapäraselt eluohtlikud. Enamik listerioosi haiguspuhangutest on põhjustatud pika säilimisajaga (säilimisaeg üle kümne päeva) valmistoitude, eelkõige liha- ja kalatoodete tarbimisest, mis omakorda on seotud *L. monocytogenes*’e võimega kasvada madalatel temperatuuridel nii vaakumisse kui gaasikeskkonda pakendatud valmistoitudes (Stephan jt, 2015). *L. monocytogenes* on looduskeskkonnas suhteliselt laialdaselt esinev bakter, mistõttu võib ta toitu sattuda saastunud toorainetest ja/või saastunud pindade vahendusel, nt valmistoodete viilutamisel ja pakendamisel. *L. monocytogenes* vajab oma kasvuks niisket keskkonda ning on võimeline niisketel pindadel kergesti moodustama biokirmet, mis on kaitsva kihiga ümbritsetud mikroorganismide kooslus. Eriti oluline on vältida toitude kuumtöötlemise järgset saastumist, mistõttu peavad toiduga kokku puutuvad pinnad olema patogeenvabad. Samas on *L. monocytogenes* tundlik enamike kuumtöötlemisel kasutatavate temperatuuri ja aja kombinatsioonide suhtes, nt pastöriseerimine hävitab selle haigustekitaja kergesti. Vältida tuleb saastunud tooraine kasutamist, nt niiske ilmaga korjatud liiga mullased köögiviljad võivad sisaldada arvukalt listeriaid.

Mõnikord on õigustatud toorainele tingimuste kehtestamine, mis nõuavad *L. monocytogenes*’e puudumist tooraines.

*L. monocytogenes* ei ole enamikel juhtudel võimeline kasvama pH väärtustel alla 4,4 ning kui toidu vee aktiivsus on alla 0,92. Samuti saab tema kasvu vältida kombineerides toidu seestmiste faktoritega, nt pH 5,0 kombinatsioonis vee aktiivsusega alla 0,94.

*L. monocytogenes* võib kasvada nii õhu puudusel kui olemasolul, kuid mitte keskkonnas, kus süsinikdioksiidi tase on 100% (säilitab eluvõime, kuid ei paljune).

*L. monocytogenes* ei talu konkureerivat mikrobiotat ehk ei talu piimhappebakterid ega teisi toitu hapendavaid mikroorganisme, mistõttu hapendatud toitudes ei ole ta reeglina suuteline paljunema inimese tervisele ohtlike määradeni. Siiski on teda isoleeritud fermenteeritud toorvorstidest ning pehmetest toorpiima juustudest. *L. monocytogenes* ei kasva ohtliku määrani ka siis, kui toidus on rohkelt toidu riknemist põhjustavat mikrobiotat, nt pseudomonaseid ja piimhappebaktereid.

### 5.2. *Clostridium botulinum*’i ohjemeetmed

*Clostridium botulinum* (edaspidi *Cl. botulinum*) toodab termoresistentseid eoseid, mis võivad vastu pidada pastöriseerimise ning teistele toidu kuumtöötlemise temperatuuridele.

Probleemiks on eelkõige pika säilimisajaga toidud, kus haigustekitaja võib soodsatest kasvuteguritest ning temperatuurirežiimide rikkumisest tingituna kasvada (NZSA, 2005). Kuumtöötlemisele järgnev vaakumpakendamine või gaasikeskkonda pakendamine avaldab toksiini tootmisele väiksemat mõju. Peamised tegurid on säilitamise temperatuur ja aeg. Haigustekitaja võib toidus toota inimese tervisele väga ohtlikku toksiini. Juhul, kui toitu on sattunud *Cl. botulinum*'i eosed ning toidu seesmised ja välised tegurid võimaldavad vegetatiivsete rakkude teket, siis muutub toit inimese tervisele potentsiaalselt ohtlikuks. *Cl. botulinum*'i eosed võivad esineda toitudes, mida korjatakse maapinnalt või püütakse veekogudest, mis on eostega saastunud ning võivad kasvukeskkonna saastumisest tingituna toitu sattuda. Kuna bakter esineb sageli mullas, siis seondub ta ka taimset päritolu toidu toormega. Haigustekitajat on sageli isoleeritud saastunud veekogudest püütud kaladelt ning teistelt mereandidelt (NZG, 2014). Üksnes eostega toidu saastumine ei kujuta iseenesest probleemi, kuid kui tingimused võimaldavad *Cl. botulinum*'i kasvu ja toksiinide produtseerimist, siis on reeglina tagajärjeks toidust tingitud botulism. Botulism lõppeb väga sageli surmaga (~8% haigusjuhtumitest) ning 80% botulismi haigestunudest vajab intensiivravi. Järgnevalt on esitatud mõned näited toitudest, mis on põhjustanud botulismi haiguspuhanguid:

**Tabel 11.** Botulismi haiguspuhanguid põhjustanud toitude näited

Toidu kategooria	Haiguspuhanguid põhjustanud toidud
Konserveeritud köögiviljad	küüslauk õlis, marineeritud seemed, conserveeritud tomatid ja piprad, tomatimahl, oliivid õlis, röstitud baklažaan õlis, päikesekuivatatud tomatid õlis, oliivipasta ehk tapenaad
Köögiviljad	ahjukartulid, hautatud sibul
Pakendatud puuviljad	pirnid, aprikoosid, virsikud
Kala ja mereannid	toores kala ja mereannid, vaakumisse pakendatud kalatooted, suitsutatud kala, conserveeritud kala ja mereannid, kuivatatud soolakala ehk vobla (koos sisikonnaga kuivatatud)
Liha ja lihatooted	lisanditega töödeldud lihatooted, lihakonservid, fermenteeritud lihatooted, pirukad, pasteetid
Piim ja piimatooted	Mascarpone juust, pähklipüree lisandiga jogurt

#### ***Cl. botulinum*'i ohu minimeerimine:**

Kõige olulisemaks ohu minimeerimise meetmeks on heade (tootmis)hügieenitingimuste tagamine ning toidu valmistamiseks kasutatavate toorainete maksimaalse puhtuse tagamine. Oluline on vähese happesusega toitude korralik kuumtöötlemine, sõltuvalt toidus esineda võivatest haigustekitaja tüvedest kas kolm minutit +121 °C juures või kümme minutit +90 °C juures.

Tavaliselt ei kasva *Cl. botulinum* toitudes, mille pH on madalam kui 5,0, samas võib see tingida vegetatiivsetest rakkudest eoste moodustumise. Minimaalne vee aktiivsus *Cl. botulinum*'i kasvuks on 0,97 ning tema kasvu pärssiv minimaalne soolakontsentratsioon veefaasis on 3,5%. Seega saab *Cl. botulinum*'it ohjata eelkõige madala pH ja/või veeaktiivsusega, samuti mõnede toidu lisaainete (nitritsool) kasutamisega ning kasvu pärssivate säilitamistemperatuuride rakendamisega. *Cl. botulinum*'i toksiin hävib +80 °C juures 10 minutisel kuumutamisel (EFSA, 2005). Lihakonservide säilitamiseks kombineeritakse kuumtöötlemist ning soola ja nitriti

lisamist. Nitrit ja nitraat on efektiivsemad happelises keskkonnas.. *Cl. botulinum* ei kasva temperatuuridel alla +3 °C ning sügavkülmutatuna säilitatud toodetes. *Cl. botulinum* kasvab vaid keskkonnas, kus hapnik puudub (anaeroobne keskkond), nt õhukindlalt suletud pakendites, millest hapnik on eemaldatud (nt vaakumisse pakendamine), toitudes, mis on pakendatud õlisse või konserveerituna pakendites, milledest õhk on eemaldatud. Seega, haigustekitaja ei kasva õhurikkas keskkonnas, mistõttu on tema kasvu võimalik vältida ka toidu pakendamisega modifitseeritud atmosfääri, kus kasutatakse kõrgeid hapniku- või süsinikdioksiidikontsentratsioone.

Pakendatud toodete pastöriseerimine ei hävita *Cl. botulinum*'i eoseid, sest kuumtöötlemine on võimeline hävitama vaid vegetatiivseid bakteri rakke.

Inimesele patogeensed *Cl. botulinum*'i tüübid jagunevad kahte gruppi (NZSA, 2005):

Grupp 1: proteolüütilised tüved, mis toodavad A, B ja F-tüüpi neurotoksiini:

- võimelised kasvama vaakumisse pakendatud toodetes;
- minimaalne kasvu võimaldav pH 4,6;
- minimaalne kasvu võimaldav vee aktiivsus 0,94;
- minimaalne kasvutemperatuur +10 °C;
- arvukuse kümnekordne vähendamine (1 log vähendamine) +121 °C juures 0,2 minutit;
- soovituslik kuumtöötlemine 3 minutit +121 °C juures.

Grupp 2: mitte-proteolüütilised tüved, mis toodavad B, E ja F neurotoksiini

- võimelised kasvama vaakumisse pakendatud toodetes;
- minimaalne kasvu võimaldav pH 4,7;
- minimaalne kasvu võimaldav vee aktiivsus 0,97;
- minimaalne kasvutemperatuur +3,3 °C;
- arvukuse kümnekordne vähendamine (1 log vähendamine) +90 °C juures 1,1 minutit;
- soovituslik kuumtöötlemine 10 minutit +90 °C juures.

### 5.3. *Yersinia enterocolitica* ohjemeetmed

Patogeen seondub enamike põllumajandusloomadega ning sellest tingituna võib saastunud olla nii sea-, veise-, lamba- kui ka linnuliha. *Y. enterocolitica* pesitseb nt sigade tonsillides, mistõttu tuleb sellega arvestada sigade algtöötlemisel tapamajades.

Juhul, kui taimede niisutamiseks kasutatakse looduslike veekogude vett või väetamiseks loomade saastunud sõnnikut, siis võib kergesti saastuda ka taimne toit, mistõttu on tarbimisele eelnevalt oluline taimse toidutoorme hoolikas loputamine puhta joogiveega.

*Y. enterocolitica* ei kasva toitudes, mille pH on alla 4,2 ning vee aktiivsus alla 0,96. *Y. enterocolitica* on nõrk konkurentsikrofloora esindaja, nt ei talu piimhappebakterid ning muud fermentatsioonifloorat.

Kuumtöötlemine, s.h pastöriseerimine hävitab haigustekitaja. Lihatoodete kuivatamine ning fermenteerimine pärsib oluliselt *Yersinia enterocolitica* kasvu. Samuti on jersiiniad tundlikud enamike toidus kasutatavate säilitusainete suhtes, kuid teaduslikku materjali selle kohta on seni avaldatud väga vähe. *Y. enterocolitica* talub kõrgeid soola- (>7%) ning nitraatide ja nitritite kontsentratsioone ning on suhteliselt happe- ja leelisetolerantne (kasvuvõimeline vahemikus pH 4 kuni pH 10).

*Y. enterocolitica* haiguspuhanguid on seostatud ka saastunud joogivee tarbimisega.

### 5.4. *Bacillus cereus*'e ohjemeetmed

*Bacillus cereus* on keskkonnas laialdaselt levinud ning seondub eelkõige toidu toorainetega. Enim on probleeme põhjustanud tärkliiserikkad teraviljatoidud ning piimapõhised toidud. Kuivades toidumaatriksites püsivad spoorid kaua eluvõimelistena.

Toitudes, mis seonduvad *B. cereus* saastumisega, tuleb tagada võimalikult madal haigustekitaja arvukus. Nii eosed kui vegetatiivsed bakterirakud hävinevad kuumtöötlemise käigus, kuid eoste hävitamine eeldab kõrgendatud temperatuuride kasutamist. Kui toidu seesmised ja välised tegurid võimaldavad toidus vegetatiivsete rakkude kasvu, siis toimub reeglina ka toksiinide tootmine. Toksiinid on kõrgetele temperatuuridele vastupidavad.

*B. cereus* ei kasva toitudes, mille pH on alla 4,5 ning vee aktiivsus alla 0,91. Bakter võib kasvada nii õhu olemasolul kui puudusel, kuid toksiinide tootmine toimub vaid hapniku olemasolul. Ohu ennetamiseks on oluline toidu nõuetekohane kuumsäilitamine või kuumtöödeldud toitade kiire mahajahutamine. Rangelt tuleb kinni pidada toidu kuumtöötlemise ja jahutamise režiimidest. Ainult mõned üksikud *B. cereus*'e tüved on võimelised kasvama jahetemperatuuril. Vegetatiivsete rakkude kasvu on võimalik pidurdada enamike toidu säilitusainetega nt sorbaatide ja bensoaatidega. Sarnaselt listeriatega ja jersiiniatega on *B. cereus* võimeline moodustama tootmispindadele biokirjet. Seega, sobivad pesu- ja desoainteteks sellised kemikaalid, mis on võimelised lõhustama biokirjet, nt peräädikhappel põhinevad pesu- ja desoained.

## 6. Toidu külmutamine ning selle mõju toidu kvaliteedile ja ohutusele

Külmutamine on üks lihtsamaid, kiiremaid ja kindlaimaid toidu säilitamise viise. Tekstuuri, lõhna ja maitse ning enamike toitainete paremaks säilimiseks on soovitatav võimalikult kiire toidu külmutamine. Õigesti läbiviidud külmutamiseelne toidu töötlemine, külmutusprotsess ja külmutatult säilitamine tagavad toidukvaliteedi minimaalse alanemise, pidurdavad oluliselt toidu rääsumist ning peatavad täielikult mikroorganismide kasvu. Toidu kvaliteedi tagamiseks on mõttekas toidu sügavkülmsäilitamine alla -18 °C temperatuuridel. Temperatuuril ligikaudu -40 °C võib toitu säilitada kvaliteedi isegi aastate jooksul.

**Tabel 12.** Töötlemisviisist tulenev vitamiinide ja mineraalainete protsentuaalne vähenemine võrreldes algse sisaldusega tooraines

Vitamiinid või mineraalained	Külmutamine	Kuivatamine	Keetmine	Keetmine + kurnamine
<b>Vitamiinid</b>				
Vitamiin A	5	50	25	35
Vitamiin C	30	80	50	75
Vitamiin B1 ehk tiamiin	5	30	55	70
Vitamiin B2 ehk riboflaviin	0	10	25	45
Vitamiin B3 ehk niatsiin	0	10	40	55
Vitamiin B6	0	10	50	65
Vitamiin B9 ehk folaat	5	50	70	75
Vitamiin B12 ehk kobalamiin	0	0	45	50
<b>Mineraalained</b>				
Kaltsium	5	0	20	25
Raud	0	0	35	40
Magneesium	0	0	25	40
Fosfor	0	0	25	35
Kaalium	10	0	30	70
Naatrium	0	0	25	55
Tsink	0	0	25	25
Vask	10	0	40	45

\*USDA, 2003

Enamikke sügavkülmutatud toite võib kuumutada kohe, kuid linnurümp ja suuremad lihatükid tuleb enne kuumtöötlemist täielikult üles sulatada. Kui liha ei ole täielikult sulanud, siis kuumutamisel jätkub liha keskosa sulamine ning toidu kuumutamise temperatuur ei ole piisav võimalike haigusetekiitajate hävimiseks. Sulatamine peab toimuma aeglaselt, et mahlad

jõuaksid kudedesse tagasi imbuda. Külmutatud toidu sulatamiseks ei sobi selle jätmine toatemperatuurile, sest sulamine toimub sellisel juhul ebaühtlaselt, nt on toidu pealmise kihi temperatuur mikroobide kasvuks soodsas vahemikus, kuid keskelt on toit veel üles sulamata. Sulatamiseks tuleb toit asetada sügavkülmast külmiku jaheseksiooni +2 °C kuni +6 °C juurde ning jälgida, et toit oleks piisavalt eraldatud muust toidust, vältimaks ristsaastumist. Sulanud/sulatatud toitu tuleb kohe kuumutada (keetmine, küpsetamine, aurutamine) või tarbida (nt marjad). Toidu sulatamiseks sobib ka sulatamisfunktsiooniga mikrolaineahi, kuid sulatatav toiduportsjon ei tohi olla liiga suur. Kuna toitu võivad tekkida mikroobide paljunemiseks soodsa temperatuuriga alad, tuleb mikrolaineahjus sulatatud toit samuti kohe toiduks valmistada (korralikult kuumutada nt kuumtöötlemata kala) või tarbida (nt marjad). Sulanud toitu ei külmutata uuesti.

Toidu külmutamise mõjust nii toidu toitainelisele kvaliteedile kui ka toidu ohutusele on avaldatud peatükk raamatus *Handbook of Food Chemistry* (Püssa, 2015). Tuleb mees pidada, et toidu (sügav)külmutamine ei hävita kogu mikroorganismide populatsiooni ning seetõttu võivad külmutatud toidus säilida ka toidupatogeene. Viimasest tingituna on väga oluline järgida toidu sulatamise temperatuure (soovitavalt jahetemperatuuridel), portsjonite suurusi ning tagada sulamisjärgselt toidu nõuetekohane kuumutamine.

## 7. Kuumtöötlemise efektiivsuse tagamine

Toidukäitleja vastutab toiduohutuse tagamise eest. Toidu kuumtöötlemine on toiduohutuse tagamisel kõige kriitilisem etapp, mistõttu tuleb tagada kuumtöötlemine protsessi kasutus- ja nõuetekohasus (protsessi valideerimine ja verifitseerimine). Toidukäitlejatel peaks olema üldine arusaam kuumtöötlemise protsessi matemaatikast ning teguritest, mis mõjutavad patogeene kasvu ja säilimist toidus, samuti teguritest, mis mõjutavad kuumutamise efektiivsust. Toidu kuumtöötlemise protsessi väljatöötamine ja rakendamine peab olema suunatud konkreetse patogeeni või patogeene rühma (nt vegetatiivsed patogeene ja / või eose moodustajad) hävitamiseks. Kuumtöötlemine peab toidus kõrvaldama kõik vegetatiivsed patogeene, nt. *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus*, *Campylobacter jejuni* ja patogeense *Escherichia coli*. Patogeene hävimine sõltub patogeeni omadustest, toidu säilimisajast ning toidu seesmistest ja välistest omadustest

Mõned patogeene on loomupäraselt, sõltuvalt nende tüübist ja kujust, resistentsemad kuumutamise suhtes. Grampositiivsed bakterid on tavaliselt vastupidavamad kuumtöötlemisele kui gramnegatiivsed bakterid ning bakterite eosed on vastupidavamad kui grampositiivsete või -negatiivsete bakterite vegetatiivsed rakud. Samuti on patogeenidel perekonnast, liigist ja tüvest lähtuvalt erinev vastupanuvõime kuumusele, nt *L. monocytogenes*'e serotüüp 4b on vastupidavam kui mõni teine serotüüp.

Bakteritel on nende elutsükli jooksul neli kasvufaasi: lag-, log-, statsionaarne- ja surmafaas.

Mikroobirakud on vananedes kuumakindlamad, eriti statsionaarse faasi (faasis, kus bakterite arv oluliselt ei muutu) ajal ja vähem vastupidavad log-faasi (logaritmilise kasvufaasi) ajal. Samuti on teada, et kuumuskindlus on kõrgem lag-faasi (bakterite kohanemisfaas) alguses ja väheneb rakkude log-faasi jõudmisel. Eelnev kokkupuude keskkonnast tulenevatele stressoritele, nt toidu happeline keskkond või bakterite hävitamiseks mittepiisav temperatuur, võivad tõsta bakterite kuumustaluvust. Samuti on teada, et mida rohkem (arvukamalt) on mikroorganisme toidus, seda kõrgem on nende vastupanuvõime kuumutamisele.

Ettevõtte poolt kuumtöötlemise protsessi efektiivsuse hindamisel välja valitud patogeeni (nn eesmärk ehk sihtmärk patogeene) hävitamismäära kindlaks tegemine on kriitilise tähtsusega. Ohutu kuumtöötlemise protsessi kavandamiseks ja rakendamiseks on baastasemel vaja mõista

kuumtöötlemise matemaatilisi põhimõtteid. Kuumtöötlemise tulemusena peab patogeeni arvukus vähenema 6-D (miljoni kordne, 6-Log) võrra, mis tähendab seda, et algse sihtmärk-patogeeni arvukusega võrreldes on saavutatud 99,9% sihtmärk-patogeeni arvukuse langus.

D-väärtus on aeg (minutites või sekundites) konkreetse temperatuuri juures, mille jooksul hukkub 90% konkreetse mikroorganismi populatsioonist. Seda nimetatakse ka sihtmärk-mikroorganismi arvukuse kümne kordseks ehk 1-Log ( $\text{Log}_{10}$ ) languseks. Kuna kümnekordne arvukuse langus ei taga patogeenide täielikku hävitamist valmistoitudes, siis ei ole see piisavalt tõhus kuumtöötlemisrežiim. Kuumtöötlemisega tuleb tagada mikroobide arvukuse langus 6-Log võrra.

Termo-režiimide efektiivsuse hindamisel on kasutusel ka Z-väärtuse mõiste, mis on temperatuuri numbriline tõus, mida on vaja D-väärtuse kümnekordseks langetamiseks.

Eoseid mittemoodustavatest patogeenidest peetakse *L. monocytogenes*'t kõige kuumuskindlamaks patogeeniks. Seetõttu peaks 6-D tagav kuumtöötlemine hävitama ka teised olulised vegetatiivsed toidupatogeenid nagu *Salmonella* spp., *S. aureus*, *Y. enterocolitica*, *V. parahaemolyticus* ja patogeenne *E. coli*.

Kehtestatavad D-väärtused ja Z-väärtused peavad lähtuma konkreetsest toidumaatriksist. Iirimaa Toiduohutusameti juhenddokumendis (FSAI, 2006) on *L. monocytogenes*'e miljonikordseks arvukuse languseks vajaliku aja ja temperatuuri kombinatsiooniks märgitud 2 minutit temperatuuril 70 °C. Kasutada võib ka teisi aja ja temperatuuri kombinatsioone, mis tagavad sama (6-D) tulemuse, nt:

- 64 °C temperatuuri puhul 12 minutit ja 37 sekundit;
- 68 °C temperatuuri puhul 3 minutit ja 42 sekundit;
- 69 °C temperatuuri puhul 2 minutit ja 43 sekundit;
- 70 °C temperatuuri puhul 2 minutit;
- 71 °C temperatuuri puhul 1 minutit ja 28 sekundit;
- 72 °C temperatuuri puhul 1 minutit ja 5 sekundit;
- 73°C temperatuuri puhul 48 sekundit;
- 74°C temperatuuri puhul 35 sekundit;
- 75 °C temperatuuri puhul 26 sekundit.

Tuleb meeles pidada, et mõnedes toodetes võib kuumtöötlemise ajal toimuvatest füüsikalistest muutustest (nt toote geelistumine või tahkestumine) tingituna muutuda ka kuumtöötlemise efektiivsus, nt kuivtoodete (riis, pasta) puhul, kus kuivtoote keetmisel muutub ka D-väärtus.

Juhtudel, kus riskihindamise tulemusena on selgunud, et konkreetsetes toidus/tootes võib ohutegurina esineda toksiine tootev *Clostridium botulinum* või mõni muu eoseid moodustav bakter, on vaja rakendada täiendavaid ohjemeetmeid. Tegelik risk sõltub *Clostridium botulinum*'i tõenäolisest esinemisest toidu koostisosades, kasvu pärssivate toidu seestiste faktorite (nt vee aktiivsus, pH) puudumisest ning anaeroobse keskkonna olemasolust, mis võimaldab eoste idanemist ehk vegetatiivsete rakkude, ja seeläbi ka toksiinide, teket. Selliseid tingimusi võimaldavateks toitudeks võivad olla, nt nii *sous vide* tooted kui ka gaasikeskkonda ja vaakumisse pakendatud toidud.

Toidu seestiste ohjefaktorid, mis takistavad eoste kasvamist ning toksiini tootmist *Clostridium botulinum*'i mitteprotolüütiliste tüvede poolt, on:

1. kogu toote ulatuses pH, mis on madalam kui 4.5
2. kogu toote ulatuses soola kontsentratsioon 3,5% (veefaasis)
3. kogu toote ulatuses vee aktiivsus 0,97 (või sellest madalam)
4. igasugused kuumtöötlemise ja toidu säilimist soodustavate tegurite kombinatsioonid, mille puhul on *Clostridium botulinum*'i kasvu välistamine eelnevalt tõendatud.



Mitteproteolüütilist *Clostridium botulinum* tüüp B-d peetakse mitteproteolüütilistest *Clostridium botulinum*'st kõige kuumuskindlamaks, mistõttu saab antud patogeeni 6-D tasemel kuumutamisprotsessiga hävitada ka kõik vegetatiivsed (eoseid mittemoodustavad) patogeenid, sealhulgas *L. monocytogenes*'e.

Psühhotroofse (mitteproteolüütilise) *Clostridium botulinum*'i tüüp B arvukuse 6-D vähendamiseks on soovitatud 10-minutilist 90 °C juures kuumutamist ning Z-väärtust 10 °C. Samaväärne toime tagatakse 100 °C temperatuuriga ühe minuti jooksul (FSAI, 2006).

## Kokkuvõte

Ettevõtte, kes soovib oma tooteid edukalt turustada, ei saa endale lubada toidu säilimisaegadega seonduvaid probleeme. Toidukäitleja esmakohustuseks on tagada toiduohutus ning tarbijate eeldustele vastav toidu kvaliteet. Säilimisaegade määramisel tuleb reeglina arvestada nii toiduohutuse kui kvaliteedi kriteeriumitega, kusjuures sageli tuleb toidu tootjal vastavad kriteeriumid ise välja töötada.

Toidu säilimisaeg tuleb määrata toidu/toote väljatöötamisstaadiumis, kuna säilimisaeg on üks toidu olulisemaid parameetreid, mis esitatakse nii toote spetsifikatsioonil teisele toidukäitlejale kui ka toidualase teabe osana toidupakendil tarbijale.

Toidu säilimisaja määramise edukus sõltub kokkuvõttes järgmistest teguritest:

- toidu ohutuse tagamise kindlusest;
- oluliste kvaliteedi näitajate määramise oskusest;
- toidu kvaliteedi halvenemise ja/või riknemise viiside mõistmisest;
- toidu säilimisaja määramise võimekuse olemasolust rakendades kas otseseid või kaudseid (nt ennustusmudelid) säilimisaja meetodeid või kombineerituna mõlemaid;
- laboratoorsete analüüside tulemuste interpreteerimise oskusest.

Tootjad peaksid pakendi disainimisel arvestama sellega, et tarbijate jaoks oluline teave oleks hõlpsasti leitav, kergesti loetav ning mõistetav.

Ohutu ning stabiilse kvaliteediga toidu tootmine ning turustamine sisaldab hoolikalt planeeritud ja seejärel läbiviidud kestvuskatseid ning tõstab toidu tootja usaldusväärsust tarbijate silmis.

## LISA 1. Toiduohutuskriteeriumid valmistoitudele, *Listeria monocytogenes*

Toidukäitlejad peavad kindlustama, et toit on kogu säilimisaja jooksul ohutu. Erilist tähelepanu tuleb pöörata valmistoitudele, milles *L. monocytogenes* on võimeline säilitama eluvõime ning paljunema. Valmistoit on toit, mida tootja või valmistaja on kavandanud otsetarbimiseks ja mis ei vaja kuumtöötlemist või muul viisil töötlemist asjaomaste mikroorganismide tõhusaks kõrvaldamiseks või nende taseme vähendamiseks vastuvõetava piirini.

*L. monocytogenes*'t peetakse töödeldud jahutatud toitade puhul üheks kõige ohtlikumaks toidupatogeeniks, kuna ta on võimeline kasvama madalatel temperatuuridel, nt on *L. monocytogenes*'e kasvu alumine piirmäär, sõltuvalt toidust, -1,5 °C kuni +3 °C.

Valmistoitude säilimisaja määramisel on oluline arvestada, kas toit kui keskkond on võimeline soodustama *L. monocytogenes*'e kasvu või mitte.

**Arvestades eelnevat peab toidu valmistaja laboratoorsete katsetega määrama toidu füüsikalisi-keemilisi omadusi, nt toidu pH, vee aktiivsust, soolasisaldust, säilitusainete kontsentratsiooni jms, mis otseselt mõjutavad listeriae kasvu toidus. Vastavad andmed peavad olema detailsetelt dokumenteeritud.**

Vastavalt toiduainete mikrobioloogiliste kriteeriumide määrusele (ELT, 2005) rakendatakse *L. monocytogenes* suhtes toiduohutuse kriteeriume järgmiselt:

1. Imikute valmistoit ja valmistoit meditsiiniliseks eriotstarbeks. *L. monocytogenes*'t ei tohi esineda 25 grammis (n=10, c=0) kogu säilimisaja jooksul.
2. Teistele valmistoitudele, milles *L. monocytogenes* **ei paljune**, kehtib nõue, et: *L. monocytogenes*'e arvukus ühes grammis valmistoidus ei või ületada 100 pmü-d (pesa moodustavat ühikut, edaspidi pmü) kogu toidu säilimisaja jooksul (n=5, c=0).
3. Valmistoitudele, milles *L. monocytogenes* **võib paljuneda**, kehtib nõue, et *L. monocytogenes*'t ei tohi esineda 25 g-s tootes (n=5, c=0) selle valmistamise lõpus, võttes proovi ettevõttes või selle laost, ehk enne, kui toit on viidud selle tootnud toidukäitleja vahetu kontrolli alt välja.

Selgitus: n = proovi moodustavate ühikute arv; c = proovi nende ühikute arv, mille väärtused jäävad näitajate/piirmäärade m ja M vahele.

Juhul, kui toidu valmistaja suudab pädevale asutusele piisavalt tõendada, et kogu säilimisaja jooksul kriteerium 100 pmü/g ei saa ületatud, kuid samas on tegemist tootega, milles *L. monocytogenes* võib paljuneda, kehtib nõue, *L. monocytogenes*'e arvukus ühes grammis valmistoidus ei tohi ületada 100 pmü-d kogu toidu säilimisaja jooksul (n=5, c=0).

Kriteeriumidele vastavuse korraline kontroll ei ole tavaasjaoludel vajalik järgmiste valmistoitude puhul:

- *L. monocytogenes*'e kõrvaldamiseks kuumtöödeldud või muul viisil töödeldud valmistoidud, kui saastumine ei ole pärast töötlemist võimalik nt lõpp-pakendis kuumtöödeldud toidud;
- värske, lõikamata ja töötlemata köögi- ja puuvili;
- leib, küpsised ja muud sellised tooted;



- pudeli- või pakendiveed, karastusjoogid, õlu, siider, vein, kanged alkohoolsed joogid ja muud sellised tooted;
- suhkur, mesi, kakao ja šokolaaditooted ning muud kondiitritooted;
- elusad kahepoolmelised molluskid;
- söögisool.

#### **Valmistoidud, milles *L. monocytogenes* ei paljune**

Reeglina *L. monocytogenes* ei paljune toitudes, mille pH ja vee aktiivsus ( $a_w$ ) on:

- $\text{pH} \leq 4,4$  või vee aktiivsus  $a_w \leq 0,92$ ;
- $\text{pH} \leq 5,0$  ja vee aktiivsus  $a_w \leq 0,94$ .

Valmistoite, mille säilimisaeg/kõlblikkusaeg on **kuni 5 päeva**, peetakse toitudeks, milles *L. monocytogenes* **ei paljune ohtliku määran**i. See ei kehti liittoitude puhul, kus toidu koostises oleva toidu säilimisaeg ületab 5 päeva, nt võileib, mille säilimisaeg on 5 päeva, kuid võileivas kasutatud juustu säilimisaeg on märkimisväärselt pikem.

Teised toidud võivad nimetatud rühma kuuluda juhul, kui see on teaduslikult põhjendatud, nt teatud fermentatsiooni mikrobioota olemasolu toidus, mis ei võimalda *L. monocytogenes* bakteritel toidus kasvada, külmutatud toidud jms.

Nendele toitudele rakendub järgmine kriteerium: *L. monocytogenes*'e arvukus ühes grammis tootes ei või ületada 100 pmü/g-s kogu toidu säilimisaja jooksul ( $n=5$ ,  $c=0$ ).

Toiduohutus tuleb tagada HACCP-il ja/või headel hügieenitavadel põhineva tootmisprotsessi kontrolliga ning seires keskenduda fikseeritud kriitilistele kontrollpunktidele, nagu mikroorganismide kasvu mõjutavad toidu seesmised mõjurid, koostisosade saastumistasemed jms. Samuti tuleb kriteeriumi kontrollil rakendada enesekontrollisüsteemi nõuetekohasuse tõendamistevõusi.

Juhul, kui **käitleja soovib rakendada valmistoidule, milles *L. monocytogenes* võib paljuneda, kriteeriumi 100 pmü/g**, tuleb teostada nakkuskatse vastavalt ISO standardile ja/või Euroopa Liidu *L. monocytogenes*'e referentlaboratooriumi tehnilisele juhenddokumendile (EVS-EN ISO 20976-1:2019; EURL Lm, 2019). Viimane eeldab laboratoorseid katseid, et uurida tootesse inokuleeritud (tahtlik nakatamine/saastamine) *L. monocytogenes*'e võimet tootes erinevates põhjendatult eeldavates ladustamistingimustes kasvada või ellu jääda. Erinevate ladustamistingimuste all mõeldakse ka eeldavates jaotamis-, ladustamis- ja kasutamistingimustes rakendatavaid säilitamistemperatuure, nt  $+7\text{ }^{\circ}\text{C}$  (tootmistasand),  $+7\text{ }^{\circ}\text{C}$  (jaemüük) ning  $+12\text{ }^{\circ}\text{C}$  (tarbija poolne toidu säilitamine) ja -ajaperioode. Täiendavat *L. monocytogenes*'e kasvu puudutavat informatsiooni on võimalik saada matemaatiliste prognoosmudelite kasutamisega.

Eeltoodud analüüsid tuleb teostada laboratooriumis, mis omab teadmisi nakkus- ja kestvuskatsete tegemiseks vastavalt Euroopa Liidu *Listeria monocytogenes*'e valdkonna referentlaboratooriumi koostatud dokumendi (EURL Lm, 2018) nõuetele.

**Märkus:** tavapärase kestvuskatsetega ei ole võimalik tõendada *L. monocytogenes*'e kasvupotentsiaali, sest analüüsitavad proovid ei pruugi olla *L. monocytogenes*'e bakteritega saastunud.

**Kui eeltoodud uuringuid ei teostata või ei teostata nõuetele vastavalt, siis kehtib valmistoidule piirmäär *L. monocytogenes* "puudub 25 grammis tootes" ( $n=5$ ,  $c=0$ ) enne, kui toit on viidud selle tootnud toidukäitleja vahetu kontrolli alt välja.**

Seadusandlus (määrus (EÜ) nr 2073/2005) võimaldab toiduettevõtetal teha eelmainitud uuringute (nt nakkuskatsete) korraldamisel **koostööd**.

### Nõuetekohasuse tõendamine

Katsete järgselt toimub toiduohutuse nõuetekohasuse tõendamine ehk verifitseerimine vastavalt ettevõtte enesekontrolli raames kehtestatud korrale ning sagedusele. Lähtuda tuleb toidu mikrobioloogiliste kriteeriumite määru (määrus (EÜ) 2073/2005) nõuetest. Proove tuleb võtta ka tootmiskeskonnast (pinnaproovid).

Enesekontrolli raames nõuetekohasuse tõendamise tegevuste läbiviimisel tuleb *L. monocytogenes*'e suhtes toiduproovide võtmisel ja analüüside planeerimisel arvestada:

- proovid peavad olema esinduslikud ehk osaproovid tuleb võtta juhusliku valimina, mille korral partii igal eri osal on sama tõenäosus valimit moodustada;
- proov koosneb 5 osaproovist;
- osaproov on näiteks üks vorstilatt, pakk viinereid, pakk viilutatud soolakala, karp salatit, hallitusjuust jms.;
- kui toitu turustatakse nii viilutatult kui viilutamata, tuleb proovid võtta viilutatud tootest, mis on pakendatult viisil, nagu seda müügiks pakutakse;
- uuringute tegemisel tuleb arvestada toidu loomuliku muutumise ning töötlemis- ja ladustamistingimusi. Säilitamistemperatuuri valimisel tuleb arvestada temperatuuridega kogu kõlblikkusaja jooksul ehk arvesse tuleb võtta ka jaemüügi ning tarbija tasandi eeldatavaid säilitamistemperatuure.

Selgitus: toidu säilimisaja/kõlblikkusaja määramisel liiga madala säilitamistemperatuuri kasutamine, võrreldes tegelike temperatuuridega turustamise ja kasutamise ajal, võib tuua kaasa mikroobide, sealhulgas *L. monocytogenes*'e, kasvu alahindamise ja selle tagajärjel toidu säilimisaja/kõlblikkusaja pikkuse ülehindamise.

Juhul, kui nõuetekohasuse tõendamisel selgub, et toit/toode ei vasta nõuetele, tuleb läbi viia põhjuste analüüs, mis peab olema dokumenteeritud. Seejärel tuleb rakendada asjakohaseid korrigeerivaid meetmeid.

Säilimisaja lühendamine või listeriade kasvu pärssivate toidu säilitusainete toidu koostisesse lisamine (või teised bakteriostaatilise või bakteritsiidse toimega meetmed) on olulised *L. monocytogenes*'e kasvu toidus takistavad (seega ka rahvatervisega seonduva listerioosi riski vähendavad) meetmed.

## Kasutatud kirjandus

- Barbosa, A., Bremner, A., Coolum, M., Vaz-Pires, P. 2002. The meaning of shelf-life. Raamatus: Safety and quality issues in fish processing (Toimetaja: H. Allan Bremner), Woodhead Publishing Limited, lk. 173-219.
- David Kilcast, Persis Subramaniam (Eds.) Food and beverage stability and shelf life. Woodhead Publishing Limited, 2011, lk. 849.
- Dominic Man, C.M. 2015. Introduction to shelf life of foods – frequently asked questions. Raamatus: Shelf Life. Second Edition (Toimetaja: C.M. Dominic Man). John Wiley & Sons, Ltd., lk. 1-40.
- EFSA, European Food Safety Authority. 2005. Opinion of the scientific panel on biological hazards on the request from the Commission related to *Clostridium* spp in foodstuffs. The EFSA Journal (2005) 199, 1-65
- EFSA, European Food Safety Authority. 2014. Scientific Opinion on the public health risks related to the maintenance of the cold chain during storage and transport of meat. Part 1 (meat of domestic ungulates). EFSA Journal 2014;12(3):3601.
- EFSA, European Food Safety Authority. 2015. Scientific and technical assistance on the evaluation of the temperature to be applied to pre-packed fishery products at retail level. EFSA Journal 2015; 13(7):4162.
- EFSA, European Food Safety Authority. 2016. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2015. EFSA Journal 2016, 14(12), lk. 4634.
- EFSA, European Food Safety Authority. 2018. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2017. EFSA Journal 2018, 16(12), p. 5500.
- EURL Lm, European Union Reference Laboratory for *Listeria monocytogenes*. 2018. EURL Lm Guidance Document to evaluate the competence of laboratories implementing challenge tests and durability studies related to *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods. Version 2 – 7 May 2018.
- EURL Lm, European Union Reference Laboratory for *Listeria monocytogenes*. 2019. EURL Lm Technical Guidance Document for conducting shelf-life studies on *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods. Version 3 of 6 June 2014 – Amendment 1 of 21 February 2019.
- EVS-EN ISO 20976-1:2019 Microbiology of the food chain – Requirements and guidelines for conducting challenge tests of food and feed products – Part 1: Challenge tests to study growth potential, lag time and maximum growth rate. Eesti Standardikeskus.
- FSAI, Food Safety Authority of Ireland. 2006. Industrial Processing of Heat-Chill Foods. Guidance Note No. 20. ISBN 1-904465-39-0. lk. 1-72.
- FSAI, Food Safety Authority of Ireland. 2017. Validation of Product Shelf-Life, Revision 3, lk. 1-50.
- Hajmeer, M.N., Cliver, D.O. 2012. Microbiology of Food Preservation and Sanitation. Raamatus: Foodborne Diseases. Second Edition (Toimetajad: Dean O. Cliver ja Hans P. Riemann). Food Science and Technology, International Series. Academic Press. An imprint of Elsevier Science, lk. 331-352.
- Hächler, H., Marti, G., Giannini, P., Lehner, A., Jost, M., Beck, J., Weiss, F., Bally, B., Jermini, M., Stephan, R., Baumgartner, A. Outbreak of listeriosis due to imported cooked ham, Switzerland 2011. Eurosurveillance, 2013, 18, lk. 1-5.
- IFST. 1993. Shelf Life of Foods Guidelines for its Determination and Prediction, Institute of Food Science and Technology (UK) London.

- Jay, J.M. 2000a. Intrinsic and extrinsic parameters of foods that affect microbial growth. Raamatus: Modern Food Microbiology. Sixth edition (Toimetaja: James M. Jay). An Aspen Publication. lk. 35-56.
- Jay, J.M. 2000b. Low-temperature food preservation and characteristics of psychotrophic microorganisms. Raamatus: Modern Food Microbiology. Sixth edition (Toimetaja: James M. Jay). An Aspen Publication. lk. 323-339.
- Jay, J.M., Loessner, M.J., Golden, D.A. 2005. Intrinsic and Extrinsic Parameters of Foods that Affect Microbial Growth. Raamatus: Modern Food Microbiology. Seventh edition (Toimetajad: J.M. Jay, M.J. Loessner ja D.A. Golden). New York: Springer Science & Business Med Inc., lk. 39-60.
- Kiis, A., Reinik, M., Ilmoja, K., Kaart, K. 2000. Sulfitite ja SO<sub>2</sub> seire toiduainetes. Agraarteadus, XII(4), 311-317.
- Man, D. 2002. Shelf life. Food Industry Briefing Series, Blackwell Science, Oxford.
- Man, C.M.D. 2004. Shelf-life testing. Raamatus: Understanding and measuring the shelf-life of food (Toimetaja: R. Steele). Woodhead Publishing Limited. lk. 340-356.
- Määrus (EÜ) nr. 178/2002, toidualaste õigusnormide üldised põhimõtted ja nõuded. Teabeallikat kasutatud: 08.11.2019.
- Määrus (EÜ) nr. 852/2004, toiduainete hügieeni kohta. Teabeallikat kasutatud: 08.11.2019.
- Määrus (EÜ) nr. 2073/2005, toiduainete mikrobioloogiliste kriteeriumite kohta. Teabeallikat kasutatud: 08.11.2019.
- Määrus (EÜ) nr. 1169/2011, toidualase teabe esitamine tarbijatele. Teabeallikat kasutatud: 08.11.2019.
- NZSA, New Zealand Food Safety Authority. 2005. A guide to calculating the shelf life of foods. ISBN: 0-478-07865-X, lk. 1-29.
- NZG, New Zealand Government. Ministry for Primary Industries. 2014. How to determine the shelf life of food. 22 July 2014, lk. 1-34.
- Püssa, T. 2015. Nutritional and toxicological aspects of the chemical changes of food components and nutrients during freezing. Raamatus: Handbook of Food Chemistry (Toimetajad: Peter Chi Keung Cheung ja Bhavbhuti M. Mehta). Berlin Heidelberg: Springer-Verlag Berlin, ISBN 978-3-642-41609-5 (Online), ISBN 978-3-642-36604-8, lk. 1-23.
- Roasto, M., Meremäe, K., Elas, P., Elias, T., Elias, A. 2011. Mikroorganismide kasvu mõjutavad tegurid. Raamatus Toiduainetööstuse tootmishügieen (Koostajad: Mati Roasto, Marko Breivel ja Priit Dreimann), Halo kirjastus, lk. 161-172.
- Scott, V.N., Clavero, R.S., Troller, J.A. 2001. Measurement of water activity (a<sub>w</sub>), acidity, and brix. Raamatus: Microbiological examination of foods. Fourth edition (Toimetajad: Frances Pouch Downes ja Keith Ito). American Public Health Association. lk. 649-657.
- Soidla, R., Elias, P., Mahla, T. Suitsutamine. R. Raamatus: Toiduainete konserveerimise ja säilitamise alused (Toimetajad: R. Soidla, P. Elias ja T. Mahla). Halo Kirjastus 2004, lk. 88-90.
- Stephan, R., Althaus, D., Kiefer, S., Lehner, A., Hatz, C., Schmutz, C., Jost, M., Gerber, N., Baumgartner, A., Hächler, H., Mäusezahl-Feuz, M. Foodborne transmission of *Listeria monocytogenes* via ready-to-eat salad: A nationwide outbreak in Switzerland, 2013-2014. Food Control, 2015, 57, lk. 14-17.
- TAI, Tervise Arengu Instituut. 2017. Eesti toitumis- ja liikumissoovitused 2015. Puffet Invest OÜ, ISBN 978-9949-461-77-6 (pdf).
- ToiduS. Toiduseadus. RT I, 22.02.2019, 28. Teabeallikat kasutatud: 08.11.2019
- USDA, 2003. Table of Nutrient Retention Factors. <http://nutritiondata.self.com/topics/processing>